ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΚΡΙΣΤΙΝΑ ΕΛΕΝΑ ΑΤΟΥΝΤΟΡΕΪ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ

«ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ RNAs ΣΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ ΡΙΖΟΥ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ MSc, PhD

ΑΘΗΝΑ 2021



NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS MEDICAL SCHOOL

POST-GRADUATE PROGRAM
METABOLIC BONE DISEASES

LABORATORY FOR RESEARCH OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM
"TH. GAROFALIDIS"
DIRECTOR: ASSOCIATE PROFESSOR EUSTATHIOS CHRONOPOULOS

MASTER THESIS

CRISTINA ELENA ATUDOREI

BIOCHEMIST

«NON-CODING RNAs IN BONE METABOLISM»

SUPERVISOR: STAVROULA RIZOU
BIOLOGIST MSc, PhD

ATHENS 2021

Βιογραφικό σημείωμα

ΕΠΩΝΥΜΟ: **ΑΤΟΥΝΤΟΡΕΪ**

ΟΝΟΜΑ: **ΚΡΙΣΤΙΝΑ ΕΛΕΝΑ**

e-mail: **kissynger@yahoo.gr / criselen3478@gmail.com**

ΥΠΗΚΟΟΤΗΤΑ: **Ελληνική**

*ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ***: Έγγαμη**

ΣΠΟΥΔΕΣ

2012 **Ισοτιμία Δ.Ο.Α.Τ.Α.Π., πτυχίο ισότιμο και αντίστοιχο προς τα πτυχία του Προγράμματος Σπουδών Επιλογής (Π.Σ.Ε.) Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**

2003 **Πτυχίο ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ του Πανεπιστήμιου "AL. I. CUZA" Ρουμανία Βαθμός πτυχίου 7,43 (μέσος όρος ECTS 7,71)**

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ/ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

2017 έως και σήμερα - Βιοχημικός στο Κεντρικό Βιοπαθολογικό εργαστήριο Αθηνών

2010-2011 -Υπάλληλος γραφείου στην Ι.Β.Ο. ΙΩΑΝ. ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

2010 -Ασφαλιστικός σύμβουλος στην ΕΘΝΙΚΗ ΑΣΦΑΛΙΣΤΙΚΗ

2008 - Σύμβουλος εφαρμογής συστήματος ποιότητας & ασφάλειας τροφίμων (HACCP) στην εταιρεία Α.Β. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ Α.Ε. στα πλαίσια της πρακτικής άσκησης

2001 - Πρακτική άσκηση έξι μηνών σε βιοχημικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου "SF. SPIRIDON" της Ρουμανίας

ΕΠΙΜΟΡΦΩΣΗ

- Πιστοποίηση τεχνικής ικανότητας στην υποστήριξη και εφαρμογή του συστήματος SLIS από την εταιρία INFOMEDCOMPUTERSERVICES
- Πιστοποιητικό Εκπαίδευσης χρήσης του αναλυτή COBAS 6000 Analyzer, ROCHEDIAGNOSTICS (HELLAS)AE
- Πιστοποιητικό Εκπαίδευσης χρήσης του αναλυτή HYBRIDXL, ΝΕΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΔΙΑΣΤΑΣΗ ΕΠΕ
- Καταχώρηση ηλεκτρονικών παραπεμπτικών στον ΕΟΠΥΥ

2020 4th Annual Meeting on Cancer Biology and New Molecules in Cancer Therapeutics - University Hospital of Larissa

2020 3° Συνέδριο Βιοασφάλειας της Ελληνικής Εταιρίας Βιοασφάλειας–Ελληνική Εταιρία Βιοασφάλειας

2019 8° Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας / 4°Συμπόσιο Εργαστηριακής Αιματολογίας & Αιμοδοσίας – Πολεμικό Μουσείο

2019 24° Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης του Γ.Ν.Α. « Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ » -Ένωση Επιστημονικού ΠροσωπικούΝοσοκομείου « Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»

2019 Ημερίδα «Η πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας», αμφιθέατρο Υπουργείου Υγείας

2018 Απογευματινά μαθήματα που διοργανώθηκαν από την Εταιρία Κλινικής Χημείας – Κλινικής Βιοχημείας, με θέματα που αφορούν στα InVitro Διαγνωστικά εργαστήρια - Δώμα του Νοσοκομείου Ευαγγελισμό

2018 Διημερίδα «Η μοριακή Ιατρική από το εργαστήριο στην πράξη: Προκλήσεις &Ερωτήματα» Αίγλη Ζαππείου

2018 23° Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης: «Η Προστασία των Προσωπικών Δεδομένων μέσα από την διαχείριση κινδύνων στα InVitro Διαγνωστικά Εργαστήρια» - Ένωση Ελλήνων Χημικών

2018 8° Ετήσιο συνέδριο ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΔΙΑΚΥΒΕΡΝΗΣΗΣ – Ξενοδοχείο Wyndham Grand

2018 23° Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης του Γ.Ν.Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» - Ένωση Επιστημονικού Προσωπικού Νοσοκομείου « Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»

2017 Πρόγραμμα εκπαίδευσης με θέμα την «Ανάλυση του προτύπου ISO 15189: 2012 / Σύστημα Ποιότητας του Εργαστηρίου κατά ISO 15189: 2012»

2017 Διημερίδα «Η Μοριακή Ιατρική από το εργαστήριο στην πράξη: Προκλήσεις και Ερωτήματα » - Ινστιτούτο Μοριακής Ιατρικής και Βιοϊατρικής Έρευνας , Αίγλη Ζαππείου

2017 Ημερίδα Βιοασφάλειας στα ιατρικά εργαστήρια - Πολεμικό Μουσείο Αθηνών

2017 22° Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης «Παλιές και νέες τεχνολογίες στην διάγνωση και παρακολούθηση των λοιμώξεων» - Ελληνική Εταιρία Κλινικής Χημείας –Κλινικής Βιοχημείας

2017 10ης Επιστημονική Ημερίδα Τεχνολόγων Ιατρικών Εργαστηρίων «Βιοαπεικόνηση- Εφαρμογές Πληροφορικής στις Βιοεπιστήμες»

2011 Συνέδριο «ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΑ» -24 ώρες- Αθήνα Ίδρυμα Ευγενίδου

2011 7ο Πανελλήνιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο με θέμα «ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ» -18 ώρες – Αθήνα, ξενοδοχείο DIVANI CARAVEL

2009 5ο Πανελλήνιο 'Προπασχαλινό' Εκπαιδευτικό Σεμινάριο με θέμα «ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ – ΒΙΕΝΝΗ 2006» -18 ώρες- Αθήνα, ξενοδοχείο DIVANI CARAVEL

2008 Επιστημονική Ημερίδα της εβδομάδας διατροφής 2008 με θέμα ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ – ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ υπό την αιγίδα του Υπουργείου Υγείας και Κοινωνικής και Αλληλεγγύης του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών - 8 ώρες Κεντρικό Αμφιθέατρο του Χαροκοπείο Πανεπιστήμιο Αθηνών

2008	Σεμινάριο «Σύμβουλος εφαρμογής συστήματως ποιότητας και ασφάλειας τροφίμων (HACCP) σε επιχειρήσεις τροφίμων και ποτών» -250 ώρες- Αθήνα, INTEGRATION ΚΕΚΑΕ/ΕΚΤ
2008	ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΕΩΣ -20 ώρες- Αθήνα, ξενοδοχείο DIVANI CARAVEL
2008	Ημερίδα 1η ΔΙΑΤΟΜΕΑΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ ΔΙΑΛΟΓΟΥ ΠΑΘΟΛΟΓΩΝ-ΧΕΙΡΟΥΡΓΩΝ με θέμα τη χειρουργική Θεραπεία της νοσηρής παχυσαρκία -8 ώρες- Αθήνα, ξενοδοχείο DIVANI CARAVEL
2002	Σεμινάριο "BIOLOGIE ET PATHOLOGIE MOLECULAIRE. BIOTECHNOLOGIES" (Βιολογία και μοριακή παθολογία. Βιοτεχνολογίες) -100 ώρες - υπό την αιγίδα της Ρουμάνικης Ακαδημίας, της Ακαδημίας Επιστημών του Παρισίου, του Υπουργείου Εθνικής Παιδείας, Έρευνας και τεχνολογίας της Γαλλίας σε συνεργασία με την Γαλλική Πρεσβεία στην Ρουμανία
ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ	ΑΓΓΛΙΚΑ (Certificate of achievement TOEIC – επίπεδο ADVANCE)
	ΓΑΛΛΙΚΑ (πολύ καλά)
	ΕΛΛΗΝΙΚΑ (Πιστοποιητικό Επάρκειας της Ελληνομάθειας - Δ επίπεδο)
	ΡΟΥΜΑΝΙΚΑ (μητρική γλώσσα)
	ΙΤΑΛΙΚΑ, ΙΣΠΑΝΙΚΑ, ΓΕΡΜΑΝΙΚΑ (λίγο)
ΓΝΩΣΕΙΣ Η/Υ	Κάτοχος πιστοποιητικού ECDL PROGRESS (WORD, EXCEL, INTERNET)
2008	γνώσεις WINDOWS, ACCESS, POWER POINT

Περίληψη

Η βέλτιστη λειτουργία του σκελετού διατηρείται χάρη της οστικής ανακατασκευής, μια συνεχής διαδικασία αποδόμησης και αντικατάτασης του οστίτη ιστού που λαμβάνει χώρα όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου. Η διαδικασία αυτή για να είναι επιτυχής θα πρέπει να υπάρξει ισορροπία μεταξύ των μηχανισμών της οστεοβλαστογένεσης και της οστεοκλαστογένεσης.

Νοσήματα των οστών απαντώνται σε εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και τα τελευταία χρόνια η εμφάνιση τους έχει αυξηθεί εξαιτίας της γήρανσης του πληθυσμού. Κατά την τελευταία δεκαετία όμως, ένας μεγάλος αριθμός ιατρικών δεδομένων επικεντρώθηκε στους επιγενετικούς παράγοντες διότι υπάρχει η βεβαιότητα ότι εμπλέκονται τόσο στη βιολογία των οστών όσο και στις παθήσεις τους. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί σχετίζονται με τα μονοπάτια που επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση στη μεταγεννητική ζωή χωρίς να αλλάζουν όμως την αλληλουχία του DNA. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τις μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών και τη μετα-μεταγραφική ρύθμιση με μη κωδικά RNAs (ncRNAs), με τα τελευταία να μπορούν να ανιχνεύουν κληρονομικές φαινοτυπικές τροποποιήσεις.

Η προοδευτική κατανόηση των ρόλων που διαδραματίζουν οι επιγενετικοί μηχανισμοί τόσο στον φυσιολογικό μεταβολισμό των οστών, όσο και στην πρόκληση διαταραχών στην ομοιόστασή τους είναι ζωτικής σημασίας. Η πλήρης κατανόηση της βιολογίας των οστών, εκτός του ότι είναι χρήσιμη για τη διατήρηση της φυσιολογικής τους λειτουργίας, συντελεί και στην προαγωγή της καλής τους υγείας αλλά και στην κατανόηση των μηχανισμών που προκαλούν τα νοσήματα των οστών.

Πρόσφατα, τα lncRNAs, μια υποκατηγορία των ncRNA, περιγράφθηκαν ως οι βασικοί ρυθμιστές πολλών κυτταρικών διαδικασιών που σχετίζονται με τη διατήρηση της ομοιόστασης των οστών και την εμφάνιση νοσημάτων ή κακοηθειών τους. Ο τρόπος και η έκταση της έκφρασής τους έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις και την εκδήλωση νοσημάτων. Ο πιθανός έλεγχος της ρύθμισης της έκφρασης τους τους καθιστά ως πιθανούς διαγνωστικούς, προγνωστικούς και θεραπευτικούς βιοδείκτες για ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου.

Σε αυτήν την ανασκόπηση αναλύεται ο ρόλος των μη κωδικών RNAs, τα λεγόμενα και ως «σκοτεινή ύλη του DNA», στην οστική ανακατασκεύη, στη λειτουργία των οστικών κυττάρων, στη συμβολή τους στην πρόγνωση και την ανίχνευση των παθήσεων των οστών καθώς και της θεραπείας τους.

Λέξεις Κλειδιά: Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, Μη κωδικό RNA, Επιγενετική, Αρνητικοί/Θετικοί Ρυθμιστές, Βιοδείκτες

Abstract

The integrity and proper function of the human skeleton depends on the continuous renewal of bone tissue throughout life, a process that in order to be successful there must be balance between bone formation and bone resorption.

Millions of people affected by bone diseases worldwide and in recent years their incidence has increased due to the aging population. Over the past decade, however, a large number of medical data have focused on epigenetic factors because there is certainty that they are involved in both bone biology and disease. Epigenetic mechanisms are related to pathways that affect gene expression in the postnatal life without altering the DNA sequence. These mechanisms include DNA methylation, translational histone modifications, and non-coding RNA post-transcription (ncRNA) modulation, with the latter being able to detect inherited phenotypic modifications.

A progressive understanding of the roles that epigenetic mechanisms play in both normal bone metabolism and in causing homeostasis disorders is vital. A complete understanding of bone biology, in addition to being useful for maintaining their normal function, also contributes to the promotion of their good health but also to the understanding of the mechanisms that cause bone diseases.

Recently, lncRNAs, a subset of ncRNAs, have been described as the key regulators of many cellular processes involved in maintaining bone homeostasis and the onset of disease or malignancy. The manner and size of their expression has been shown to be associated with pathological conditions and the manifestation of diseases. The possible control of the regulation of their expression makes them as possible diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers for a wide range of diseases, including cancer.

This review analyzes the role of non-coding RNAs, also known as "DNA dark matter", in bone remodeling, bone cell function, their contribution to the prognosis, detection as well as the treatment of bone diseases.

Key Words: Mesenchymal stem cells, Non-Coding RNAs, Epigenetic, Negative/ Positive Regulators, Biomarkers

Περιεχόμενα

Βιογραφικό σημείωμα iii

Περίληψη vii

Abstract ix

Πίνακας Εικόνων xii

Πρόλογος xiii

1. Εισαγωγικά στοιχεία 1

2. Οστικός μεταβολισμός 2

2.1 Ο ρόλος των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων (MCS) στον σχηματισμό των οστών 4

2.2 Ο ρόλος των οστικών κυττάρων στον μεταβολισμό των οστών 6

2.3 Ο ρόλος του μονοπατιού σηματοδότησης Wnt στο σχηματισμό των οστών 12

2.4 Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες και σχηματισμός των οστών 14

2.5 Ο ρόλος του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών στον οστικό σχηματισμό 15

3. ncRNAs 18

3.1 Ορισμός-Κατηγορίες 18

3.2 miRNAs 21

3.2.1 Ο ρόλος των miRNAs στην οστεογένεση 23

3.3 lncRNAs 26

3.3.1 lncRNAs στην οστεογονική διαφοροποίηση 31

3.3.2 lncRNAs που ρυθμίζουν την οστεοβλαστογένεση 36

3.3.3 lncRNAs που ρυθμίζουν την οστεοκλαστογένεση 41

3.4 circRNAs 43

3.4.1 Τα circRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών 45

3.4.2 Τα circRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών 45

4. Ο ρόλος των ncRNAs στις παθήσεις των οστών 46

4.1 miRNAs και lncRNAs στις παθήσεις των νοσημάτων των οστών 50
5. Θεραπεία 54
5.1 Μελλοντικές κατευθύνσεις της θεραπείας στην κλινική πράξη 62
5.2 Τα ncRNAs ως νέοι θεραπευτικοί στόχοι αλλά και ως διαγνωστικά-προγνωστικά εργαλεία στα νοσήματα των οστών 63
6. Συμπεράσματα – Μελλοντικές Προοπτικές 65
Βιβλιογραφία 71
Παράρτημα 85
Συντομογραφίες και ακρωνύμια 85

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1. Απεικόνιση της οστεοκλαστικής και οστεοβλαστικής διαφοροποίησης. 8
Εικόνα 2. Κατηγορίες των μη κωδικών RNAs..... 19
Εικόνα 3. Η σύνδεση μεταξύ μακρών μη κωδικών RNA (long non coding, lncRNAs) και μικρών ή κοντών μη κωδικών RNA (microRNAs, miRNAs) 21
Εικόνα 4. Λειτουργίες και μηχανισμοί των lncRNAs. 27
Εικόνα 5. Ταξινόμηση των lncRNA με βάση τη γονιδιωματική τους θέση σε σχέση με τα γειτονικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. 29
Εικόνα 6. Ταξινόμηση των lncRNAs με βάση τον τόπο που εντοπίζονται. 30
Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση των lncRNA που πειραματικά έχουν αποδειχθεί ότι συμμετέχουν στη διαφοροποίηση των οστικών κυττάρων 33
Εικόνα 8. Το miRNA, το lncRNA και το circRNA επηρεάζουν τους οστεοβλάστες και τους οστεοκλάστες και συμμετέχουν στην εμφάνιση της οστεοπόρωσης. 46
Εικόνα 9. Απεικόνιση της διαδικασίας της ανακατασκευής των οστών. 51
Εικόνα 10. Τα lncRNA είναι κρίσιμοι μεσολαβητές της διαδικασίας ανακατασκευής των οστών, η οποία διαταράσσεται στο νόσημα της οστεοπόρωσης 53
Εικόνα 11. Διαφορετικά εκφραζόμενα lncRNAs σε δείγματα αίματος είναι δυνητικοί βιοδείκτες για την οστεοπόρωση 57

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως θέμα «Μη Κωδικα RNAs Στον Οστικο Μεταβολισμο» και πραγματεύεται το μηχανισμό των μη κωδικών RNAs, μέσω του οποίου τα μόρια αυτά εμπλέκονται στην εμφάνιση παθήσεων των οστών διαταράσσοντας τον φυσιολογικό μεταβολισμό τους. Επιπρόσθετα, παρατίθεται ο ρόλος τους ως δείκτες ανίχνευσης νοσημάτων ανάλογα με τον τρόπο έκφρασης τους, την υπερέκφραση ή τη μειωμένη έκφραση. Τέλος, απαραίτητη είναι η κατανόηση και η ανάδειξη του ρόλου και της χρησιμότητας τους στην πρόγνωση και στην θεραπεία των οστικών παθήσεων.

1. Εισαγωγικά στοιχεία

Τα οστά είναι ένας συνδετικός ιστός με μια εξωκυτταρική μήτρα (ECM) με ανόργανα άλατα τα οποία παρέχουν υποστήριξη στον οργανισμό και επηρεάζουν το μεταβολισμό του ασβεστίου με το ανόργανο φώσφορο (Ca/Pi).[1] Τα οστά υφίστανται μια συνεχή και ισορροπημένη διαδικασία σχηματισμού από τους οστεοβλάστες και απορρόφησης οστού από τις οστεοκλάστες, διαδικασία που είναι βασική προϋπόθεση για τη διατήρηση της ομοιόστασης δηλαδή, της καλής υγείας των οστών σε ολόκληρη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου.[1-3]

Η ομοιστασία καταστέλλεται εξαιτίας επιγενετικών παραγόντων με αποτέλεσμα να προκαλείται διαταραχή της ισορροπίας της ανακατασκευής των οστών και να οδηγούνται σε απώλεια της οστικής μάζας. Με αυτόν τον τρόπο αλλάζουν τα μοριακά χαρακτηριστικά του οστικού μικροπεριβάλλοντος και εμφανίζονται βλάβες που είναι επίπονες και οδηγούν σε κατάγματα ή σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να συμβεί αυξημένη εναπόθεση οστού οδηγώντας βέβαια και στις δυο περιπτώσεις σε παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι η οστεοπόρωση, όπου οι μηχανισμοί και οι αιτίες τους θα αναλυθούν εκτενώς στη συνέχεια.[4,5]

Τόσο ο σχηματισμός όσο και η απορρόφηση των οστών, ρυθμίζονται από διάφορους παράγοντες. Οι ορμόνες που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία είναι παραθορμόνη (Parathyroid hormone, PTH), η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D3 [1,25$(OH)_2D_3$], και η καλσιτονίνη (Calcitonin, Ct).[1,2] Οι οστεοβλάστες ρυθμίζονται από τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (Bone morphogenetic proteins, BMPs) και τον αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (Fibroblast growth factors, FGFs). Η οδός σηματοδότησης Wnt είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων σε ώριμα κύτταρα οστεοβλαστών και σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη, την ομοιόσταση καθώς και την επισκευή αλλά και την αναγέννηση των οστών μετά από τραυματισμό ή κάταγμα, ενώ ο υποδοχέας του συνδετικού πυρηνικού παράγοντα NF-kB (RANKL) μεσολαβεί ώστε να επιτευχθεί η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών.[2,6]

Τα νοσήματα των οστών εκτός από το υπάρχον γενετικό υπόβαθρο που συντελεί στην εμφάνιση τους, οφείλονται και σε επιγενετικούς παράγοντες που εμπλέκονται και τροποποιούν τη βιολογία των οστών. Ως επιγενετικοί παράγοντες νοούνται οι μηχανισμοί που

επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση στη μεταγεννητική ζωή χωρίς όμως να αλλάζει η αλληλουχία του DNA.[3]

Τα ncRNA ανήκουν σε επιγενετικούς μηχανισμούς ελέγχου, οι οποίοι είναι κληρονομικές φαινοτυπικές τροποποιήσεις, που δεν οφείλονται σε αλλαγές στις αλληλουχίες DNA. Τα lncRNAs είναι μια υποκατηγορία των ncRNAs και είναι υπεύθυνα σε πολλές κυτταρικές διαδικασίες αλλά και στη διατήρηση της ομοιόστασης στων οστών.[3] Σχετίζονται με πολλά νοσήματα των οστών αλλά και κακοηθειών που έχουν σχέση με τα οστά καθώς το μέγεθος της εκφρασής τους, η υπερέκφραση ή η μειωμένη έκφραση μπορεί να οδηγήσει είτε σε φυσιολογικές είτε σε παθολογικές καταστάσεις. Οι μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ lncRNAs, miRNAs και mRNAs είναι μεγίστης σημασίας τόσο στην κατανόηση του μηχανισμού κατά του οποίου προκύπτει ένα νόσημα αλλά κυρίως στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών ώστε να επιτευχθεί η ανακάλυψη αποτελεσματικών θεραπειών για τα νοσήματατων των οστών. Πιθανές θεραπείες βασισμένες στο RNA δύναται να υλοποιηθούν με τα χαρακτηρισμένα lncRNAs ως βιοδείκτες καθώς θα υπήρχε η δυνατότητα με τη γνώση για το ποια lncRNAs ανταγωνίζονται τα επίπεδα έκφρασης και τις επιδράσεις των ογκογόνων lncRNAs ή ποια lncRNAs αυξάνουν τα επίπεδα έκφρασης και τις επιδράσεις των ογκοκατασταλτικών lncRNAs.[3]

Ως βιοδείκτης έχει οριστεί: «οποιαδήποτε ουσία, δομή ή διαδικασία που μπορεί να μετρηθεί στο σώμα ή τα προϊόντα του και να επηρεάσει ή να προβλέψει την επίπτωση έκβασης ή ασθένειας»[7]

2. Οστικός μεταβολισμός

Κατά τη διάρκεια της εμβρυολογικής ανάπτυξης και πιο συγκεκριμένα κατά την έκτη ή έβδομη εβδομάδα κυήσεως λαμβάνει χώρα η εμβρυϊκή οστεοποίηση, ξεκινά δηλαδή ο σχηματισμός των οστών στο έμβρυο ή αλλιώς η οστεογένεση.[6] Η οστεογένεση προκύπτει από την μετατροπή του ήδη υπάρχοντα μεσεγχυματικού ιστού σε οστικό ιστό.[8] Αναλυτικότερα, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSC) διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες (οι οποίοι διαφοροποιούνται σε οστεοκύτταρα), χονδροκύτταρα και λιπώδη κύτταρα. Οι οστεοβλάστες αρχικά εγκαθίστανται κατά μήκος της ασβεστοποιημένης

περιοχής της μήτρας των οστών, εν συνεχεία ένας μεγάλος αριθμός τους παγιδεύεται εντός της μήτρας των οστών και μετατρέπεται σε οστεοκύτταρα.[2,8-11] Η ενδομεμβρανική οστεοποίηση σχετίζεται άμεσα με αυτή την διαδικασία της διαφοροποίησης των MCS σε οστεοβλάστες και αφορά τον σχηματισμό των επίπεδων οστών δηλαδή των κρανιοπροσωπικών και των οστών της λεκάνης.[8,9,12] Όταν τα MCS διαφοροποιούνται σε χονδροκύτταρα επιτυγχάνεται η δημιουργία του χόνδρου ο οποίος με τη σειρά του προοδευτικά μετατρέπεται σε οστό καθώς τα χονδροκύτταρα υφίστανται πολλαπλασιασμό, υπερτροφία, κυτταρικό θάνατο καθώς και οστεοβλαστική αντικατάσταση.[8,12-14] Η διαδικασία αυτή της αντικατάστασης του χόνδρου από οστό ονομάζεται ενδοχονδριακή οστεοποίηση και αφορά το σχηματισμό των περισσότερων οστών του ανθρώπινου σκελετού, τα μακρά, τα κοντά και τα ακανόνιστα οστά, για παράδειγμα τα μηριαία και τα οστά της κνήμης.[2,8-10,12,14]

Στη διαδικασία κατά την οποία τα MCS μετατρέπονται σε χονδροκύτταρα και οστεοβλάστες μέσω και της ενεργοποίησης ορισμένων γονιδίων που συμμετέχουν ενεργά κατά τη δημιουργία του σκελετού συμβάλλουν: α) οι παράγοντες μεταγραφής RUNX2, που είναι ένας παράγοντας πρώιμης διαφοροποίησης και εκφράζεται στα μεσεγχυματικά κύτταρα για να σχηματιστούν οι προοστεοβλάστες και β) το Osterix, όπου η έκφραση του προκαλεί τους προοστεοβλάστες να διαφοροποιηθούν σε ώριμους και λειτουργικούς οστεοβλάστες και εν συνεχεία σε οστεοκύτταρα κατά τη διαδικασία της οστικής παραγωγής.[14]

Τα οστά που σχηματίζονται από τις δυο αυτές διεργασίες, της ενδοχονδριακής και της ενδομεμβρανικής οστεοποίησης, είναι εξαιρετικά αγγειοποιημένοι ιστοί και υφίστανται συνεχή αναδιαμόρφωση.[2] Η οστεογένεση και η αγγειογένεση έχουν τον κυριότερο ρόλο κατά την ανακατασκευή, ανάπτυξη αλλά και την αποκατάσταση τραυματισμών των οστών απαιτώντας ισορροπία στη λειτουργία τόσο των οστεοκλαστών που προέρχονται από τα οστά, όσο και των οστεοβλαστών που προέρχονται από τα MCS τα οποία είτε αποκαθιστούν βλάβες των οστών είτε τα αναδομούν.[2,13]

Είναι γνωστό ότι τα οστά από την αρχή της δημιουργίας τους και για ολόκληρη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου ανακατασκευάζονται συνέχεια. Οποιαδήποτε ανισορροπία συμβαίνει στη διάρκεια αυτής της συνεχούς φυσικής διαδικασίας του οργανισμού, δύναται να οδηγήσει σε εμφάνιση διάφορων παθήσεων των οστών. Οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες είναι τα κύτταρα που ρυθμίζουν την παραπάνω διαδικασία, με τους οστεοβλάστες να είναι υπεύθυνοι για τον σχηματισμό των οστών και τις οστεοκλάστες να έχουν κύριο ρόλο στη διαδικασία της

αποικοδόμησης και απορρόφησης τους.[9,10] Επιπρόσθετα, η διαδικασία του οστεογονικού σχηματισμού που περιλαμβάνει και τα αιμοφόρα αγγεία των οστών ελέγχεται και από διάφορους μοριακούς μηχανισμούς, αυξητικούς παράγοντες και οδούς σηματοδότησης οι οποίοι επιτελούν καίριες λειτουργίεςπου θα αναλυθούν στην συνέχεια, επομένως οποιαδήποτε μεταβολή εκτός της φυσιολογικής διαδικασίας ή δυσλειτουργία τους δύναται να οδηγήσει σε παθήσεις επηρεάζοντας αρνητικά την εύρυθμη λειτουργία του μεταβολισμού των οστών.[9,12]

2.1 Ο ρόλος των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων (MCS) στον σχηματισμό των οστών

Είναι αποδεδειγμένο ότι τα βλαστικά κύτταρα διαφόρων κυτταρικών σειρών έχουν την ικανότητα διαφοροποίησης αλλά και τη δυνατότητα αυτοανανέωσης. Χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες οι οποίες είναι: τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα, τα οποία προέρχονται από κύτταρα εμβρύων που βρίσκονται στο στάδιο της βλαστοκύστης (ESCs), τα επαγόμενα βλαστικά κύτταρα, τα οποία προέρχονται από σωματικά κύτταρα μέσω γενετικού επανοπρογραμματισμού (iPSCs) και τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα, που απομονώνονται από ιστούς ενήλικων ατόμων όπως είναι τα MSCs που βρίσκονται στον μυελό των οστών.[2,11]

Το 1876 ο Γερμανός ιατρός παθολόγος Julius Friedrich Cohnheim με την έκθεση του «Μεσεγχυματικά πρόδρομα κύτταρα» απέδειξε την ύπαρξη ενός κυττάρου που αναφέρεται ως MSC και προέρχεται από τον μυελό των οστών (BM-MSC).[15,16] Από τότε και μετά από πολλές μελέτες είναι γνωστό ότι τα MSCs (μεσεγχυματικά βλαστικά/ στρωματικά κύτταρα) προέρχονται από τον μυελό των οστών (BM-MSC) (όπως ήδη αναφέρθηκε), από τον λιπώδη ιστό (AD-MSC), το περιόστεο (P-MSC), τον ομφάλιο λώρο, το αμνιακό υγρό, τον πλακούντα και διάφορους εμβρυϊκούς ιστούς. Από αυτούς τους τύπους των MSCs τα BM-MSC και τα AD -MSC σχετίζονται κυρίως με την αναγέννηση των οστών.[15,16] Τα MSCs είναι κύτταρα ινοβλαστικού τύπου με κύριο χαρακτηριστικό τους ότι μπορούν να δημιουργούν συστάδες κυττάρων. Επιπρόσθετα, εκτός από την ικανότητα τους μέσω της ενδομεμβρανικής και ενδοχονδριακής οστεοποίησης να σχηματίζουν χόνδρο και οστά, συμβάλουν στην ανακατασκευή των οστών για την επίτευξη της αποκατάσταση της φυσιολογικής δομής και λειτουργίας τους, ενώ έχουν τόσο αντιφλεγμονώδεις όσο και ανοσορυθμιστικές

ιδιότητες.[15,17] Τα MSC διαφοροποιούνται σε διάφορους τύπους κυττάρων όπως χονδροκύτταρα, οστεοβλάστες, λιποκύτταρα και κύτταρα λείου μυός.[15,18,19]

Τα MSC εξαιτίας του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης που υφίστανται ακολουθούν διάφορα στάδια ωρίμανσης σχηματίζοντας αρχικά προοστεοβλάστες οι οποίοι κατά την διάρκεια του πολλαπλασιασμού τους εκκρίνουν αλκαλική φωσφατάση (ALP) η οποία είναι ένας πρώιμος δείκτης της οστεογένεσης. Εν συνεχεία, οι προοστεοβλάστες ωριμάζουν σε οστεοβλάστες οι οποίοι με τη σειρά τους θα εισχωρήσουν σε οστεοειδή για να σχηματίσουν οστεοκύτταρα Τα οστεοκύτταρα δηλαδή, είναι ώριμα διαφοροποιημένα κύτταρα ενσωματωμένα σε μια εξωκυτταρική μήτρα (ECM) του οστού η οποία αποτελείται από πρωτεΐνη που έχει κολλαγόνο τύπου 1 το οποίο παρέχει αντοχή και ελαστικότητα στα οστά.[2,9,15,20] Αυτά τα στάδια του πολλαπλασιασμού των μεσεγχυματικών κυττάρων και της διαφοροποίησης τα οποία οδηγούν στον σχηματισμό των οστών χαρακτηρίζονται από την έκφραση όψιμων δεικτών οστεοκαλσίνης και οστεοποντίνης.[2,15]

Η ECM είναι υπεύθυνη για τη μηχανική, λειτουργική και δομική υποστήριξη των ώριμων οστών καθώς ρυθμίζει την δραστηριότητα των βλαστικών κυττάρων και των MSCs ως προς τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση, την συντήρηση, την προσκόλληση, τη μετανάστευση και την απόπτωση τους καθώς και των φυσιολογικών αποκρίσεων των αυξητικών παραγόντων οι οποίοι θα παρατεθούν παρακάτω.[2,21]

Η ECM συμβάλλει και προωθεί την ανακατασκευής των οστών είτε επιδιορθώνοντας τον ιστό των οστών εξαιτίας βλάβης ή απώλειας τους λόγω τραυματισμού, κατάγματος, κακοήθειας ή συγγενών ανωμαλιών που προκαλούν νοσήματα, είτε με την παραγωγή νέου οστού από κύτταρα γενεαλογίας οστεοβλαστών (οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα, MCS) και οστεοκλάστες που έχουν την ικανότητα να απορροφούν οστά ώστε να επάγεται η συνεχής ανακατασκευή τους.[6,21]

Τα MSCs επιτελούν πολύ σημαντικές λειτουργίες στην ανακατασκευή των οστών και την αντιμετώπιση της φλεγμονής, του τραυματισμού ή των καταγμάτων των οστών. Όμως υπάρχει και ένα αρνητικό πρόσημο στον τρόπο που δρουν καθώς υπάρχουν μελέτες που έδειξαν ότι δύναται να προάγουν τόσο την αγγειογένεση όσο και την ανάπτυξη κακοήθους όγκου. Ο Galderisi U et al, το 2010[22] απέδειξαν ότι οι κακοήθεις όγκοι αναγνωρίζονται από τα MSCs ως σημείο βλάβης που χρήζει επιδιόρθωσης, επομένως προάγεται η διαδικασία της αγγειογένεσης με αποτέλεσμα να ευνοείται η μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων σε

άλλα κύτταρα στόχους και να δημιουργούνται μετάστασεις.[16,22] Επίσης, οι μεταβολές της μετανάστευσης των MSC στην επιφάνεια των οστών μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένες ισορροπίες του μεταβολισμού των οστών και να προκαλέσουν νοσήματα, για το λόγο αυτό θα εξετασθούν και θα αναλυθούν παρακάτω οι λόγοι και οι αιτίες που μπορεί να ευθύνονται για την δημιουργία ανισορροπιών καθώς επίσης και τους πιθανούς τρόπους αναστολής τους.[17]

Το σκελετικό σύστημα δέχεται μεταξύ 10% και 15% της συνολικής καρδιακής παροχής.[12] Η ανανέωση του σκελετού όμως, εκτός από τα δυο στάδια οστεοποίησης (οστεογένεσης) που έχουν περιγράφει παραπάνω περιλαμβάνει και μια συνδυασμένη δράση πολυάριθμων γενετικών διαδικασιών που διέπουν την αγγειογένεση η οποία είναι υπεύθυνη τόσο για τον σχηματισμό των οστών του έμβρυο όσο και στην επιδιόρθωση των οστών (σκελετού) στους ενηλίκες.[6]

2.2 Ο ρόλος των οστικών κυττάρων στον μεταβολισμό των οστών

Η αγγειογένεση και η οστεογένεση είναι δυο βασικές διαδικασίες που επιτελούνται για τον σχηματισμό των οστών. Εμπλέκονται τόσο στην ανάπτυξη των οστών όσο και στην ανακατασκεύη και επιδιόρθωση τους (το στάδιο της αγγειογένεσης έχει ήδη αναλυθεί παραπάνω).[9] Ο σχηματισμός των οστών επιτυγχάνεται μέσω τριών διαδικασιών της οστεογένεσης, της κατασκευής και της ανακατασκευής.[3,23]

Η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ των μηχανισμών της οστεοκλαστογένεσης και της οστεοβλαστογένεσης είναι πολύ σημαντική αλλά και περιπλοκή τόσο στον σχηματισμό όσο στην ανακατασκεύη και τον μεταβολισμό των οστών. Μια ανισορροπία μεταξύ απορρόφησης και σχηματισμού οστών οδηγεί είτε σε οστεοπενία είτε σε αυξημένη οστική μάζα προκαλώντας νοσήματα των οστών. Αναλυτικότερα, για τον σχηματισμό των οστών χρειάζεται η παραγωγή, η ωρίμανση αλλά και η ανοργανοποίηση της ECM.[3,10,20,24] Δηλαδή, οι οστεοβλάστες συνθέτουν την ECM ώστε να σχηματίσουν οστά (οστεογένεση) και οι οστεοκλάστες επιτελούν την διαδικασία της απορρόφησης του οστού διαλύοντας την ECM.[10,20] Το οστό πρέπει να αντικαθίσταται συνεχώς για να μπορεί να διατηρηθεί η δύναμη και η ακεραιότητα του.[9,23,25] Η ανακατασκεύη του οστού είναι η σημαντικότερη λειτουργία για την διατήρηση της ισορροπίας του ώριμου σκελετού του ανθρώπου και επιτυγχάνεται με

μία συνεχή διαδικασία όπου το οστό επαναρροφάται από τις οστεοκλάστες και επανασυντίθεται από τους οστεοβλάστες.[9,10,25]

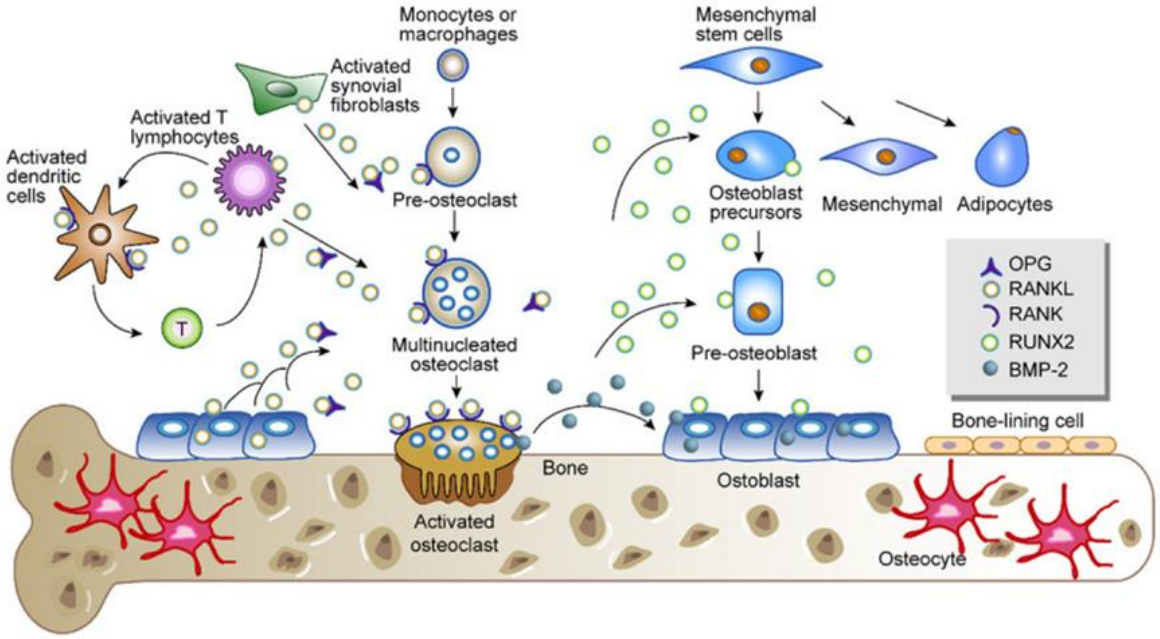
Η διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης απαιτεί την λειτουργία πρώτον, του παράγοντα διέγερσης αποικίας μακροφάγων (M-CSF), ο οποίος παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων κυρίως όμως από οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα και δεύτερον, του υποδοχέα του συνδετικού πυρηνικού παράγοντα NF-kB (RANKL) ώστε να επιτευχθεί η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών.[24,25,27]

Στα οστά η έκφραση της κυτοκίνης RANKL είναι υψηλότερη στους οστεοβλάστες και στα οστεοκύτταρα και επάγεται από παράγοντες επαναρρόφησης των οστών, όπως είναι η 1,25-διυδροξυ βιταμίνη D3 (1,25(OH)2 BIT D3) και η παραθορμόνη (PTH).[17,26)] Η δέσμευση του RANKL στον υποδοχέα του RANK, ο οποίος εντοπίζεται στην επιφάνεια των προδρόμων οστεοκλαστών, είναι το βασικότερο μόριο που ρυθμίζει τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοκλαστών καθώς ενεργοποιεί τις πρόδρομες οστεοκλάστες να διαφοροποιηθούν σε οστεοκλάστες.[25] Μέσω αυτής της διαδικασίας οι οστεοκλάστες δύναται να προσκολληθούν στην επιφάνεια των οστών και με την ταυτόχρονη έκκριση του πρωτεολυτικού ενζύμου καθεψίνη (K), δύναται να ξεκινήσει η διαδικασία της απορρόφησης τους (των οστών).[3,17,24]

Ο ενεργοποιητής υποδοχέα του παράγοντα NF-kB (RANKL) είναι υπεύθυνος για τον σχηματισμό και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, από την άλλη μεριά όμως η Οστεοπροτεγρίνη (Osteoprotegerin, OPG) προστατεύει τα οστά από την υπερβολική απορρόφηση δεσμεύοντας το RANKL. Η συγκέντρωση και η ισορροπία αυτών των δύο παραμέτρων έχει μεγάλη σημασία τόσο στον σχηματισμό της οστικής μάζας όσο και στη διατήρηση της πυκνότητας των οστών.[27]

Από κύτταρα γενεαλογίας οστεοβλαστών και συγκεκριμένα οι οστεοβλάστες, μπορούν να παράγουν και να εκκρίνουν την πρωτεΐνη OPG, η οποία είναι ένας υποδοχέας ‘δόλωμα’ του RANKL. Έτσι η OPG, αποτρέπει τη σύνδεση του RANKL στο RANK, με αποτέλεσμα την αναστολή της διαφοροποίησης και ενεργοποίησης της λειτουργίας των οστεοκλαστών, επομένως και την αρνητική ρύθμιση της οστεοκλαστογένεσης.[13,17,24,28] Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολήτης ισορροπίας μεταξύ της απορρόφησης των οστών (οστεοκλάστες) και της εναπόθεσης μιας νέας ‘ορυκτής’ μήτρας οστών δηλαδή παρεμποδίζεται ο σχηματισμός νέου οστού (οστεοβλάστες), με αποτέλεσμα να μπορούν να

δημιουργηθούν διάφορα νοσήματα που σχετίζονται με τα οστά καθώς διαταράσσεται ο μηχανισμός διατήρησης της ακεραιότητας του ανθρώπινου σκελετού.[13,17,25]



Εικόνα 1. Απεικόνιση της οστεοκλαστικής και οστεοβλαστικής διαφοροποίησης.[29]

Το RANKL μπορεί να παράγεται και να εκκρίνεται από οστεοβλάστες, ενεργοποιημένα Τ κύτταρα, και ενεργοποιημένους αρθρικούς ινοβλάστες Εν συνεχεία συνδέεται με το RANK, προάγοντας έτσι την οστεοκλαστική διαφοροποίηση και την απορρόφηση των οστών. Αντιστρόφως, το OPG μπορεί να αναστέλλει τη δέσμευση RANKL στον υποδοχέα του RANK, εμποδίζοντας έτσι τη διαφοροποίηση των προδρόμων οστεοκλαστών σε ενεργοποιημένες οστεοκλάστες. Επιπλέον, τόσο το RUNX2 όσο και το BMP-2 είναι ισχυροί επαγωγείς που μπορούν να προωθήσουν τη διαφοροποίηση των MSC σε οστεοβλάστες, ενισχύοντας έτσι τον σχηματισμό οστών.

Το σύστημα RANKL/ RANK/ OPG είναι απαραίτητο για την απορρόφηση των οστών και θεωρείται επίσης και ένας βασικός μηχανισμός στον μεταβολισμό των οστών, ο οποίος μπορεί να ρυθμίσει τόσο τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών όσο και την οστεόλυση.[30] Το τελευταίο βήμα του κύκλου της ανακατασκεύης των οστών θεωρείται επιτυχημένο όταν έχει γίνει η αντικατάσταση ίσης ποσότητας νέου οστού με αυτό που απορρίφθηκε. Η ακεραιότητα

του ανθρώπινου σκελετού διατηρείται από την ισορροπία μεταξύ της απορρόφησης των οστών και του σχηματισμού των οστών. Οποιαδήποτε τροποποίηση σε αυτό το σύστημα είτε εξαιτίας υπερβολικής απορρόφησης των οστών είτε εξαιτίας του υπερβολικού σχηματισμού οστών οδηγούν σε νοσήματα τα οποία θα αναλυθούν εκτενώς παρακάτω.[17,26]

Οστεοειδικός μεταγραφικός παράγοντας RUNX2

Οι οστεοβλάστες όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τον σχηματισμό των οστών. Η διαφοροποίηση τους είναι μια διαδικασία που είναι πολύ σημαντική και έχει κύριο ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης των οστών. Η ομοιόσταση των οστών ελέγχεται από τρεις οδούς σηματοδότησης που έχουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία αυτή και είναι: α) οι μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMP), β) η οδός σηματοδότησης Wnt και γ) ο παράγοντας ανάπτυξης των ινοβλαστών (FGF) καθώς και δύο παράγοντες μεταγραφής οι οποίοι εκφράζονται σε οστεοβλάστες και είναι εξαιρετικά απαραίτητοι για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και είναι: α) ο συντελεστής μεταγραφής 2 (RUNX2) που θεωρείται ως ο κύριος ρυθμιστής της οστεογένεσης αλλά δεν μπορεί να επιφέρει την ωρίμανση των οστεοβλαστών και β) ο ειδικός οστεοβλαστικός παράγοντας μεταγραφής ψευδαργύρου (Osterix, OSX) που φέρει ένα στοιχείο DNA που ανταποκρίνεται στην πρωτεΐνη RUNX2 και το RUNX2 που αναστέλλει την έκφραση του OSX.[4,9,20]

Επιπρόσθετα, το RUNX2 γνωστός και ως πυρήνας δέσμευσης άλφα 1 (cbfa1) είναι ένας κρίσιμος παράγοντας μεταγραφής για τον σχηματισμό προδρόμων οστεοβλαστών από μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα και το Osterix είναι κρίσιμος παράγοντας μεταγραφής για τη διαφοροποίηση του RUNX2 με σκοπό την εξαγωγή των προδρόμων οστεοβλαστών σε ώριμους και λειτουργικούς οστεοβλάστες.[14]

Η οικογένεια RUNX αποτελείται από τρεις διαφορετικές πρωτεΐνες, το RUNX1, το RUNX2 και το RUNX3. Ο ρόλος τους στον καθορισμό της δέσμευσης των MSCs είναι διαφορετικός καθώς το RUNX1 προσδιορίζει τη διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων, το RUNX2 προσδιορίζει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών κυττάρων και των χονδροκυττάρων και τέλος το RUNX3 παίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των

επιθηλιακών κυττάρων, τη νευρογένεση αλλά και τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων. Μια σημαντική δράση των πρωτεϊνών RUNX είναι ότι λειτουργούν τόσο ως ογκογόνα όσο και ως ογκοκατασταλτικά καθώς η απώλεια λειτουργίας τους φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και τον σχηματισμό κακοήθειας.[20,31]

Το RUNX2 είναι ο κύριος ρυθμιστής τόσο του ενδομεμβρανικού όσο και του ενδοχονδριακού σχηματισμού των οστών.[9] Είναι απαραίτητο για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και την ωρίμανση των χονδροκυττάρων, ενώ είναι και ο πρώτος παράγοντας μεταγραφής που απαιτείται για τον προσδιορισμό της γενεαλογίας των οστεοβλαστών.[31,32] Αναλυτικότερα, ο τομέας σύνδεσης του DNA της οικογένειας RUNX, γνωστός ως RUNT προκαλεί τη διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων και ανιχνεύεται στα οστεοχονδροπρογονικά κύτταρα (προοστεοβλάστες) στην αρχή της σκελετικής ανάπτυξης. Το RUNX2 αρχίζει να ρυθμίζεται προς τα πάνω στα επόμενα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και ανιχνεύεται σε υψηλή έκφραση στους ανώριμους οστεοβλάστες οδηγώντας στον σχηματισμό ανώριμου οστού ενώ σε ώριμους οστεοβλάστες ρυθμίζεται προς τα κάτω για να αναστείλει την ωρίμανση των οστεοβλαστών και τον σχηματισμό ώριμου οστού.[9,31,32] Δηλαδή, το επίπεδο της πρωτεΐνης RUNX2 στους οστεοβλάστες μειώνεται κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των οστών με αποτέλεσμα οι οστεοβλάστες να έχουν την δυνατότητα να αποκτούν ώριμους φαινοτύπους οι οποίοι είναι απαραίτητοι για τον σχηματισμό των ώριμων οστών. Επιπρόσθετα το RUNX2 έχει τη δυνατότητα να ενεργοποιεί την έκφραση των γονιδίων της πρωτεΐνης της οστικής μήτρας στα πρώτα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών ενώ στους ώριμους οστεοβλάστες δεν είναι απαραίτητο για την διατήρηση αυτών των γονιδιακών εκφράσεων.[31,32]

Πιο συγκεκριμένα το RUNX2 απαιτείται για την έκφραση πολλαπλών οστεογονικών γονιδίων, όπως Κολλαγόνο τύπου Ι (Colla1), Οστεοποντίνη, Αλκαλική Φωσφατάση (ALP), Σιαλοπρωτεΐνη οστού (BSP) και Οστεοκαλσίνη (BGP). Ο τρόπος λειτουργίας του έγκειται στο ότι δεσμεύεται σε ρυθμιστικές θέσεις υποκινητών οστεογονικών γονιδίων με σκοπό την ενεργοποίηση της φάσης της μεταγραφής. Η έκφραση του RUNX2 στα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών ρυθμίζεται στη φάση της μεταγραφής, της σταθεροποίησης του mRNA και της μετάφρασης.[23]

Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα Osterix στην οστεοβλαστογένεση

Το Osterix (Osx) ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά από τους Nakashima et al, το 2002[33] Είναι ένας παράγοντας μεταγραφής ψευδαργύρου που είναι γνωστός και ως Sp7 που είναι απαραίτητος για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τον σχηματισμό των οστών καθώς επηρεάζει τη μετανάστευση, την απόπτωση και το θάνατο των οστεοβλαστών και υποκυτταρικά εντοπίζεται στον πυρήνα των κυττάρων.[27,34,35] Έχει δηλαδή, σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό ενδομεμβρανώδους οστού, αλλά επηρεάζει και την ενδοχονδριακή οστεοποίηση αφού συμμετέχει ενεργά στην τελική διαφοροποίηση του χόνδρου.[17] Η έκφραση του εντοπίζεται σε κύτταρα γενεολογίας οστεοβλαστών, χονδροκυττάρων αλλά έχει βρεθεί να υπερεκφράζεται και σε διάφορους τύπους καρκινικού ιστού καθώς φαίνεται να έχει ενεργό ρόλο στην ανάπτυξη και τη μετάσταση όγκου στο οστεοσάρκωμα.[27,34]

Το Osx είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας μεταγραφής καθώς είναι απαραίτητος και για την ενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων των οστών που υποστηρίζουν το σχηματισμό οστών τόσο σε έμβρυα όσο και σε ενήλικες. Δηλαδή, δύναται να επάγει την έκφραση ώριμων γονιδίων οστεοβλαστών όπως είναι το Κολλαγόνο τύπου 1, η Οστεονεκτίνη, η Οστεοποντίνη, η Σιαλοπρωτεΐνη οστού και η Οστεοκαλσίνη τα οποία σχετίζονται με τους οστεοβλάστες και είναι υπεύθυνα για την οστεοποίηση των οστών καθώς κατά τη διαφοροποίηση των προστεοβλαστών σε ώριμους οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα.[14,27] Το Osx είναι ένας σημαντικός παράγοντας στον σκελετικό σχηματισμό με καίρια λειτουργία τόσο για τον σχηματισμό των δοντιών όσο και την επούλωση καταγμάτων των οστών.[9]

Ο Xing et al, το 2019[36] έχουν αποδείξει ότι το Osx εκφράζεται κυρίως σε οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα αλλά σε χαμηλότερα επίπεδα εκφράζεται και σε προυπερτροφικά και υπερτροφικά χονδροκύτταρα, αλλά δεν εκφράζεται σε οστεοκλάστες.[27,34] Παρόλα αυτά όμως υπάρχει συσχέτιση της αυξημένης έκφρασης του Osx η οποία μπορεί να προκαλέσει την αύξηση της λειτουργίας των κυτοκινών όπως είναι η ιντερλευκίνη 8 (IL-8) αλλά και η πρωτεΐνη PTHrP που σχετίζεται με την παραθυρεοειδή ορμόνη και εξαιτίας αυτής της αύξησης προκαλείται καταστροφή των οστών, δηλαδή η ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των οστεοκλαστών.[30]

2.3 Ο ρόλος του μονοπατιού σηματοδότησης WNT στο σχηματισμό των οστών

Το Wnt είναι μια κυτοκίνη (μια εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη) που εμπλέκεται στην οστεογένεση, τη μορφογένεση, τη καρκινογένεση και τη συντήρηση των βλαστικών μεσεγχυματικών κυττάρων (MSCs).[37] Η οδός σηματοδότησης Wnt είναι ένας από τους σημαντικότερους μοριακούς οδούς σηματοδότησης που ρυθμίζουν την τύχη των κυττάρων σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου αλλά ευθύνονται και για τη διαμόρφωση του σκελετού ως προς τη βιωσιμότητα αλλά και την καλή υγεία τόσο του ενήλικου όσο και του γηραιότερου ανθρώπινου σκελετού καθώς επιτελεί σημαντικές λειτουργίες στην ανάπτυξη αφού εμπλέκεται στις διαδικασίες της χονδρογένεσης, της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της σύνθεσης της μήτρας των οστών (ECM), την ομοιόσταση, το μεταβολισμό, την επισκευή και την ανακατασκευή τους έπειτα από τραυματισμό ή εξαιτίας της φυσικής φθοράς.[6,9,15,36] Μέσω της απόπτωσης των κυττάρων οι ώριμοι οστεοβλάστες διαφοροποιούνται σε οστεοκύτταρα. Τα οστεοκύτταρα με τη σειρά τους είναι τα κύτταρα αυτά που έχουν τον καθοριστικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία, παράγοντας την σκληροστίνη η οποία με τη σειρά της αναστέλλει τον σχηματισμό νέου οστού το οποίο θα πρόκυπτε από την οδό Wnt σε οστεοβλάστες, επομένως διαταράσσεται η ομοιόσταση των οστών.[17]

Η οδός σηματοδότησης Wnt είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων σε κύτταρα γενεαλογίας οστεοβλαστών και ταξινομείται σε δυο κατηγορίες: α) την κανονική οδό σηματοδότησης Wnt η οποία προάγει την οστεογένεση και β) τη μη κανονική οδό σηματοδότησης.[6,20,37]

Η κανονική οδός σηματοδότησης Wnt είναι εξαρτώμενη από τη β κατενίνη (Wnt/β κατενίνη) ενώ η μη κανονική οδός από ιονισμένο ασβέστιο (Ca 2+) (Wnt/Ca 2+) που λειτουργούν ανεξάρτητα από τη β κατενίνη.[6] Η κανονική οδός σηματοδότησης Wnt/β κατενίνη αποτελείται από ενεργοποιητές γνωστοί ως Wnts, ρυθμιστές, αναστολείς όπως είναι η σκληροστίνη, κινάσες και τρεις υποδοχείς, τους LPR4, LPR5 ο οποίος εμπλέκεται στη ρύθμιση της μάζας των οστών, LPR6.[37-39] Στον μεταγεννητικό αλλά και στον ώριμο ανθρώπινο σκελετό, η οδός σηματοδότησης Wnt/β κατενίνη είναι απαραίτητη για τη συντήρηση της οστικής μάζας καθώς ρυθμίζει τόσο τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών

όσο και των οστεοκλαστών.[41] Επιπρόσθετα, προκαλεί την έκφραση του Osterix , επομένως προάγεται η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και από την άλλη μεριά όμως προκαλεί και την έκφραση της οστεοπρογεγρίνης (OPG), που είναι ένας ανασταλτικός παράγοντας των οστεοκλαστών, στα κύτταρα γενεολογίας οστεοβλαστών για την πρόληψη της απορρόφησης των οστών.[24] Επίσης στα οστεοκύτταρα είναι απαραίτητη για την προστασία των οστών έναντι αποπτωτικών παραγόντων, για το φυσιολογικό σχηματισμό οστού, καθώς και για την ανίχνευση μηχανικής φόρτισης.[9]

Ο κύριος ρόλος λοιπόν της κανονικής σηματοδότησης Wnt (Wnt/β κατενίνης) στους οστεοβλάστες είναι η καταστολή του RANKL και η ενίσχυση της έκφρασης OPG, τα οποία μαζί συντελούν στον σχηματισμό και τη λειτουργία των οστεοκλαστών.[9] Η β κατενίνη έχει έναν άμεσο ρόλο στη ρύθμιση της δραστηριότητας των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών καθώς έχει αποδειχθεί ότι η ανεπάρκεια β κατενίνης οδηγεί σε εμβρυϊκές σκελετικές ανωμαλίες διότι προκαλεί την διακοπή της ανάπτυξης των οστεοβλαστών στο προοστεοβλαστικό στάδιο. Επιπρόσθετα, η αλλοιωμένη λειτουργία της σε RANKL οδηγεί σε μείωση της δραστηριότητας των οστεοκλαστών με αποτέλεσμα να οδηγεί σε μείωση της απορρόφησης των οστών.[20] Για παράδειγμα το Wnt5a (μη κανονικό Wnt) ενίσχυσε τον σχηματισμό των οστεοκλαστών ενισχύοντας με τη σειρά τους την έκφραση του RANK σε πρόδρομες οστεοκλάστες.[9,24] Το Wnt16 ανέστειλε τον σχηματισμό των οστεοκλαστών, συνεπώς καταστέλλει την οστεοκλαστογένεση που προκαλείται από RANKL με ανεξάρτητο τρόπο από αυτό της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης η οποία εμπλέκεται τόσο στον σχηματισμό όσο και στην απορρόφηση των οστών.[9,24]

Έχουν αναγνωριστεί πάνω από δεκαεννέα πρωτεΐνες Wnt όπου τουλάχιστον επτά από αυτές, οι Wnt1 (ο οποίος ενεργοποιεί τη σηματοδότηση Wnt/β κατενίνη και επιβεβαιώνει τη συμμετοχή του στο σχηματισμό οστών, καθώς παράγεται από οστεοκλάστες δρα ως παράγοντας σύζευξης και προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών), Wnt2, Wnt3a (καταστέλλουν την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων), Wnt3b, Wnt4, Wnt8, Wnt10b (διευκολύνουν την οστεογένεση και αυξάνουν την οστική μάζα,) μπορούν να ενεργοποιούν αυτό το μονοπάτι της κανονική οδού σηματοδότησης Wnt, ενεργοποιώντας τους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας τους για να διεγείρουν συγκεκριμένους ενδοκυτταρικούς οδούς σηματοδότησης που οδηγούν σε γονιδιακή έκφραση.[6,9,37,40]

2.4 Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες και σχηματισμός των οστών

Στη διαδικασία της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και των χονδροκυττάρων από τα πρόδρομα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs) εμπλέκονται και οι μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMPs) οι οποίες έχουν σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες της ενδομεμβρανικής και της ενδοχονδριακής οστεοποίησης καθώς διεγείρουν τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των MSC και συμβάλουν στην εμβρυογένεση, την οργανογένεση, την οστεογένεση και την σκελετική ανάπτυξη.[2,9,10,15] Ο ρόλος των BMP (στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών) παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στα μέσα του 1960 όταν μελετήθηκε και διαπιστώθηκε η συσχέτιση τους στη δημιουργία και το σχηματισμό των οστών.[9]

Η σχέση της σηματοδότησης του αυξητικού παράγοντα BMP και της οδού σηματοδότησης Wnt είναι άμεσα συνδεδεμένη καθώς άλλα BMPs ενισχύουν και άλλα BMPs ανταγωνίζονται την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων που προκαλείται από Wnt. Από την άλλη μεριά η διαδικασία της διαφοροποίησης των MSCs που προέρχεται από BMPs εξαρτάται άμεσα από την λειτουργική σηματοδότηση της Wnt.[6]

Οι BMPs είναι μέλη της υπεροικογένειας του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα βήτα (TGF-β) και έχουν αναγνωριστεί δεκατρείς BMPs οι οποίες έχουν διαφορετικές λειτουργίες τόσο στην ανάπτυξη των οστών όσο και στην οργανογένεση του ανθρώπινου οργανισμού. Ο TGF-β συνεργάζεται με την οδό σηματοδότησης Wnt για την επίτευξη της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών των MSCs.[10] Οποιαδήποτε διαταραχή στη σηματοδότηση των BMP (TGF-β/BMP) δύναται να προκαλέσει πληθώρα σκελετικών αλλά και εξωσκελετικών ανωμαλιών όπως οστεοαρθρίτιδα ή μεταστάσεις κακοήθων όγκων.[2,10,15]

Όμως η λειτουργία των BMPs και ενισχύεται από διάφορους μεσολαβητές που προάγουν τη δράση τους αλλά και αναστέλλεται από αναστολείς της μεταγωγής του σήματος τους. Τέτοιοι αναστολείς είναι το Noggin (που είναι πρωτεΐνες) που είναι ένας καθιερωμένος ανταγωνιστής των BMPs μπλοκάροντας τις θέσεις σύνδεσης και των δύο τύπων υποδοχέων (Τύπος Ι και Τύπος ΙΙ) και συνδέεται με το BMP7 όπου η υπερέκφραση του σε οστεοβλάστες έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της ανάπτυξης των οστών με αποτέλεσμα να προκαλεί οστεοπενία στα οστά αλλά και άλλες ανωμαλίες.[2,10] Η υπερέκφραση του Noggin ρυθμίζει αρνητικά τη

δράση των BMPs σε όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης του σκελετού και του σχηματισμού των αρθρώσεων των οστών και εμποδίζει την δράση του οστεογονικού BMP7 που σχετίζεται άμεσα με την οστεογένεση και την δημιουργία των άκρων.[41,42]

Παρότι ο κύριος ρόλος της πλειοψηφίας των BMPs είναι ο σχηματισμός των οστών και η διατήρηση της σωστής λειτουργίας τους υπάρχουν και ορισμένα όπως είναι το BMP3 και το BMP13, τα οποία είναι αναστολείς της οστεογένεσης δηλαδή έχουν ως ρόλο την αναστολή του σχηματισμού των οστών[2,9] αλλά το BMP12 και BMP13 (έχει διττό ρόλο) να έχουν και ένα καθοριστικό ρόλο στην επούλωση τραύματος των τενόντων.[2] Αναλυτικότερα το BMP2, το BMP4, το BMP6, το BMP7 και το BMP9 είναι οστεογονικά BMPs δηλαδή προάγουν την διαφοροποίηση των MSCs με τις BMP6 και BMP 7 να έχουν υψηλές οστεοεπαγωγικές ιδιότητες.[2,15,16] Το BMP3 προκαλεί πολλαπλασιασμό των MSC και παρότι είναι ένας χαρακτηρισμένος αναστολέας της οστεογένεσης μπορεί να αναστείλει την οστεογένεση που προκαλείται από τη BMP2 και τη BMP7, δεν δύναται όμως να αναστείλει τον σχηματισμό οστού που προκαλείται από τη BMP9.[2,15]

Η BMP9 φαίνεται να είναι ο πιο αποτελεσματικός οστεοεπαγωγικός αυξητικός παράγοντας από το σύνολο των BMPs, καθώς βάση μελετών έχει αποδειχθεί ότι οι μηχανισμοί που ελέγχουν την οστεογένεση που προκαλείται από την δράση τους διαφέρουν από άλλες BMPs καθώς έχει και μεταφραστική δράση προκαλώντας την αναγέννηση των οστών, όπως σε περιπτώσεις καταγμάτων.[2,16]

2.5 Ο ρόλος του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών στον οστικό σχηματισμό

Οι αυξητικοί παράγοντες ινοβλαστών FGFs εμπλέκονται τόσο στην αρνητική όσο και στη θετική ρύθμιση του σχηματισμού των οστών. Έχουν την ικανότητα να ομαλοποιούν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων σε διάφορα όργανα στόχους και κυρίως στα οστά.[1,9] Οι FGFs, αποτελούνται από 22 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και αποτελούνται από τρεις υποκατηγορίες που είναι οι κανονικές, οι ορμονικές και οι ενδοκυτταρικές. Οι ρόλοι των ενδοκυτταρικών FGF εμπλέκονται στο νευρικό σύστημα και δεν έχουν μελετηθεί αν σχετίζονται με τον σχηματισμό των οστών ενώ οι ρόλοι των κανονικών και ορμονικών FGF έχουν εντοπισθεί και μελετηθεί στην διαδιακασία της

διαφοροποίησης των οστών.[1,9] Επίσης έχουν αναγνωριστεί και τέσσερις διαφορετικοί υποδοχείς FGF οι FGFRs. Οι κανονικοί FGF έχουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των οστών και σε συνδυασμό με τους υποδοχείς αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών FGFRs σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο επιτελούν καίριες λειτουργίες κατά την διάρκεια του σχηματισμού των οστών.[1] Πιο αναλυτικά, η ανάπτυξη και η ομοιόσταση των οστών ελέγχεται από τον μηχανισμό της σηματοδότησης FGF/FGFR που εμπλέκεται στην σκελετική ανάπτυξη ελέγχοντας τη διαφοροποίηση και την απόπτωσητων κυττάρων και έχει καθοριστικό ρόλο στην επούλωση καταγμάτων αλλά και στην αναγέννηση των οστών. Οι μεταλλάξεις όμως που μπορεί να προκύψουν στην σηματοδότηση FGF/FGFR οδηγεί τόσο σε γενετικές όσο και σε επίκτητες ασθένειες του σκελετού.[43,44] Από τα 22 γονίδια που σχετίζονται με το FGF έπειτα από μελέτες έχει τεκμηριωθεί ο απαραίτητος ρόλος των FGF8, FGF9 και FGF10 στην σκελετική ανάπτυξη.[44]

Το FGF8 εκτός από τον σημαντικό ρόλο του στην ανάπτυξη των άκρων, έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και των χονδροκυττάρων καθώς έχει εντοπιστεί να εκφράζεται σε αυτά σε οστά της σπονδυλικής στήλης.[44] Από την άλλη μεριά το FGF6 έχει εντοπισθεί να έχει καταβολικές επιδράσεις σε οστεοβλάστες.[1] Το FGF9 και FGF23 που έχουν ορμονικές λειτουργίες είναι σε αφθονία και εντοπίζονται να εκφράζονται κατά την ανάπτυξη των οστεοβλαστών. Το FGF23 εκκρίνεται κυρίως από οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα.[1] Το FGF23 όμως, όπως και το FGF2 εκφράζονται αποκλειστικά σε κύτταρα γενεολογίας οστεοβλαστών και έχει βρεθεί πως το FGF23 εντοπίζεται κατά τη διάρκεια διαφορετικών σταδίων διαφοροποίησης των οστεοβλαστών όπως στην φάση του πολλαπλασιασμού.[1] Τα αυξημένα επίπεδα του FGF23 στο πλάσμα συχνά σχετίζονται με χαμηλό δείκτη μάζας σώματος (χαμηλό BMI) καθώς εμπλέκεται στη ρύθμιση της βιταμίνης D (VITD) και ρυθμίζει προς τα κάτω τον φώσφορο (P) στον ορό του αίματος.[1,44] Το FGF2 συμβάλλει στην ανάπτυξη και τη διαμόρφωση των άκρων, φαίνεται να αυξάνει τον πολλαπλασιασμό τον κυττάρων και έχει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των οστών, παρότι έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την σύνθεση του κολλαγόνου, τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) και τη ανοργανοποίηση της οστικής μήτρας.[1,44]

Σε σκελετικούς ιστούς υπό κανονικές συνθήκες δεν έχει βρεθεί να εκφράζεται το FGF21, αλλά έχει αποδειχθεί ότι συμμετέχει στην ομοιόσταση των οστών ενώ καταστέλλει την οστεοβλαστογένεση προκαλώντας λιπογένεση, καθώς είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων.[1,44]

Εν συνεχεία, ο FGF4 φαίνεται να προάγει την ενδομεβρανική οστεοποίηση και εκφράζεται στην αναπτύξη των οστών του κρανίου και του οσφυϊκού οστού. Το FGF18 από την άλλη μεριά, ενώ φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στην ενδοχονδριακή και ενδομεμβρανική οστεοποίηση, καθώς ρυθμίζει την ανάπτυξη των οστών ευνοώντας τον σχηματισμό οστεοβλαστών αλλά και επάγει την σκελετική αγγείωση έχει αντιφατικό ρόλο καθώς βάση μελετών έχει φανεί να έχει ανασταλτική δράση κατά την χονδρογένεση για το λόγο αυτό πρέπει να γίνουν εκτενείς μελέτες ώστε να διερευνηθεί ο ακριβής ρόλος του.[44] Ενώ το FGF9 εκφράζεται σε διαφορετικούς ιστούς του ανθρώπινου σώματος και φαίνεται να μπορεί να ρυθμίσει θετικά την οστεογένεση αλλά και την οστεοκλαστογένεση κατά την διαδικασία της ενδοχονδριακής οστεοποίησης.[44]

Οι υποδοχείς των FGF οι FGFRs έχουν επίσης ένα καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό των οστών κατά τις διαδικασίες της ενδοχονδριακής και ενδομεμβρανικής οστεοποίησης. Σε περίπτωση που δημιουργηθούν μεταλλάξεις σε αυτούς τους υποδοχείς τότε μπορεί να οδηγήσουν σε σύνδρομο και νοσήματα που σχετίζονται με τα οστά.

Παρότι ο FGFR4 εντοπίζεται να εκφράζεται σε οστεοβλάστες δεν έχει αποδειχθεί η συσχέτιση του με την ανάπτυξη των οστών και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Ενώ ο FGFR3 εκφράζεται σε οστεοκύτταρα και οστεοβλάστες και κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των οστών του κρανίου εκφράζεται στα μετωπιαία οστά με μειωμένη έκφραση, σε αντίθεση με τον FGFR2 που εκφράζεται σε οστεογεννητικά κύτταρα και εμπλέκονται στη διαδικασία της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και έχει ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του σκελετού.[44]

Ο υποδοχέας FGFR1 έχει καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό και την ανακατασκεύη των οστών καθώς σχετίζεται και με την ανάπτυξη των άκρων. Εκφράζεται σε χονδροκύτταρα, οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα. Σε μια σημαντική μελέτη του Jacob et al, το 2006[44] έχει προταθεί ότι το FGFR1 προάγει την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών προγονικών κυττάρων σε προοστεοβλάστες αλλά ταυτόχρονα αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους και μπλοκάρει την ωρίμανση τους σε οστεοβλαστές αυτή η υπόθεση πρέπει να διερευνηθεί και να αναλυθεί περαιτέρω.[44,45] Μεταλλάξεις στον FGFR1 συνδέονται με σύνδρομα που σχετίζονται με τα οστά του κρανίου αλλά και δυσπλασίας σε χόνδρους του άνθρωπου.[44]

3. ncRNAs

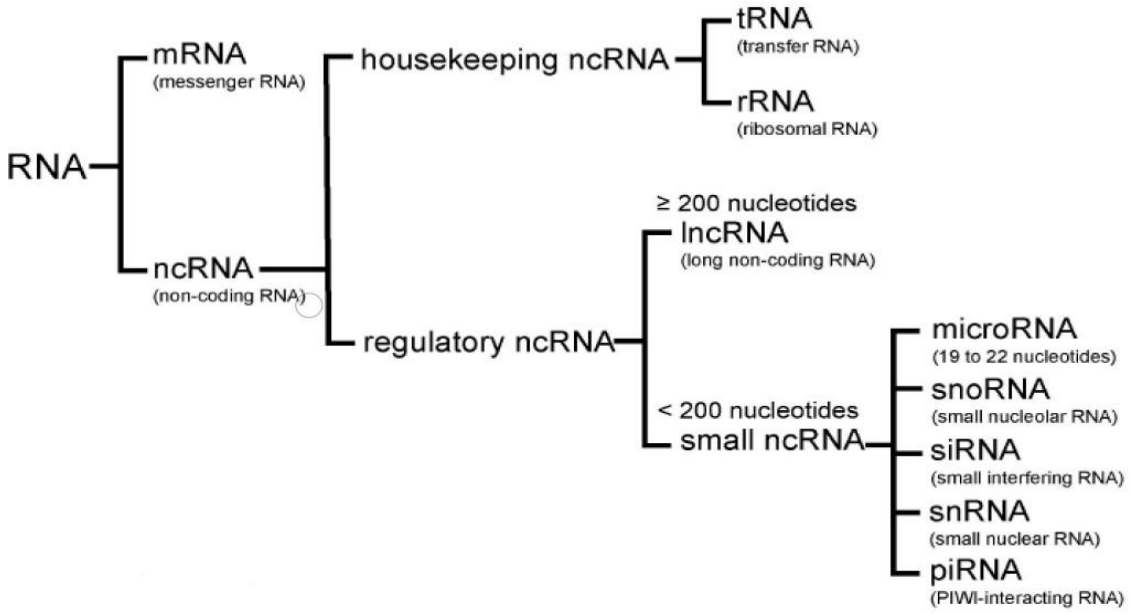
3.1 Ορισμός-Κατηγορίες

Η μελέτη του ανθρώπινου γονιδιώματος ξεκίνησε από το 1990 με τα πρώτα εμπεριστατωμένα ευρήματα να δημοσιεύονται το 2003.[46] Από αυτή την πολυετή μελέτη προέκυψε ότι το 70%-90% του ανθρώπινου γονιδιώματος μεταγράφεται σε RNA αλλά δεν μεταφράζεται σε πρωτεΐνη, ενώ υπάρχει και ένα ποσοστό της τάξης του 1% -2% του ανθρώπινου γονιδιώματος που αποτελείται από γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, διαχωρίζεται δηλαδή το RNA σε δύο κατηγορίες: α) σε RNA που έχει τη δυνατότητα κωδικοποίησης και β) σε RNA χωρίς δυνατότητα κωδικοποίησης, τα μη κωδικα RNA (Non-codingRNAs, ncRNAs) που αντιπροσωπεύουν και την πλειοψηφία των RNAs.[46,47] Τα μη κωδικά RNA (ncRNA) αποτελούνται από μόρια RNA χωρίς ή με πολύ χαμηλή ικανότητα κωδικοποίησης πρωτεΐνης και χαρακτηρίζονται από την απουσία ανοιχτών πλαισίων ανάγνωσης (ORFs). Παλαιότερα, αυτά τα χαρακτηριστικά οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι τα ncRNAs δεν επιτελούν καμία βιολογική λειτουργία στο κύτταρο και έτσι θεωρήθηκαν ως «ανεπιθύμητα RNA».[3,46,48,49]

Τα τελευταία χρόνια όμως με την χρήση ευαίσθητών μοριακών τεχνικών αλληλούχισης DNA όπως είναι η NGS (Next Generation Sequencing, αλληλούχιση νέας γενιάς) αποδείχθηκε ότι τα ncRNAs είναι μια σχετικά σταθερή, άφθονη σε ποσότητα, διαφορετική και διατηρημένη τάξη μορίων RNA, που δρουν ως ανταγωνιστικά ενδογενή νουκλεοτίδια που δεσμεύονται με RNAs και ρυθμίζουν τη μεταγραφή τους ή επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου.[4,48,50] Εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές διεργασίες κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, της οργανογένεσης και της διαφοροποίησης των κυττάρων αλλά και στην εκδήλωση διάφορων νοσημάτων συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου και της μετάστασης.[51]

Τα μη κωδικά μόρια RNA (non coding RNAs, ncRNAs) χωρίζονται σε housekeeping ncRNAs και ρυθμιστικά ncRNAs. Τα housekeeping ncRNAs περιλαμβάνουν τα μεταφορικά RNA (tRNAs) και τα ριβοσωμικά (rRNAs). Τα ρυθμιστικά ncRNA ταξινομούνται σε δυο κατηγορίες με κριτήριο το μήκος τους, δηλαδή τα ncRNA που είναι μικρότερα από 200 νουκλεοτίδια (<200 nt) ονομάζονται μικρά ή κοντά μη κωδικά RNA με τα microRNAs (miRNAs) που έχουν μέγεθος ~18-25nt να είναι η πιο γνωστή ομάδα μικρών ncRNA, ενώ αυτά που είναι μεγαλύτερα από 200 νουκλεοτίδια (>200 nt) έως και αρκετές κιλοβάσεις (kilobases) ονομάζονται μακρά μη κωδικά RNA (lncRNAs). Πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί και

μια νέα κατηγορία ncRNAs τα κυκλικά RNAs (circRNAs) που αποτελούνται από κλειστό συνεχή βρόχο.[47-49,51]



Εικόνα 2. Κατηγορίες των μη κωδικών RNAs [52]

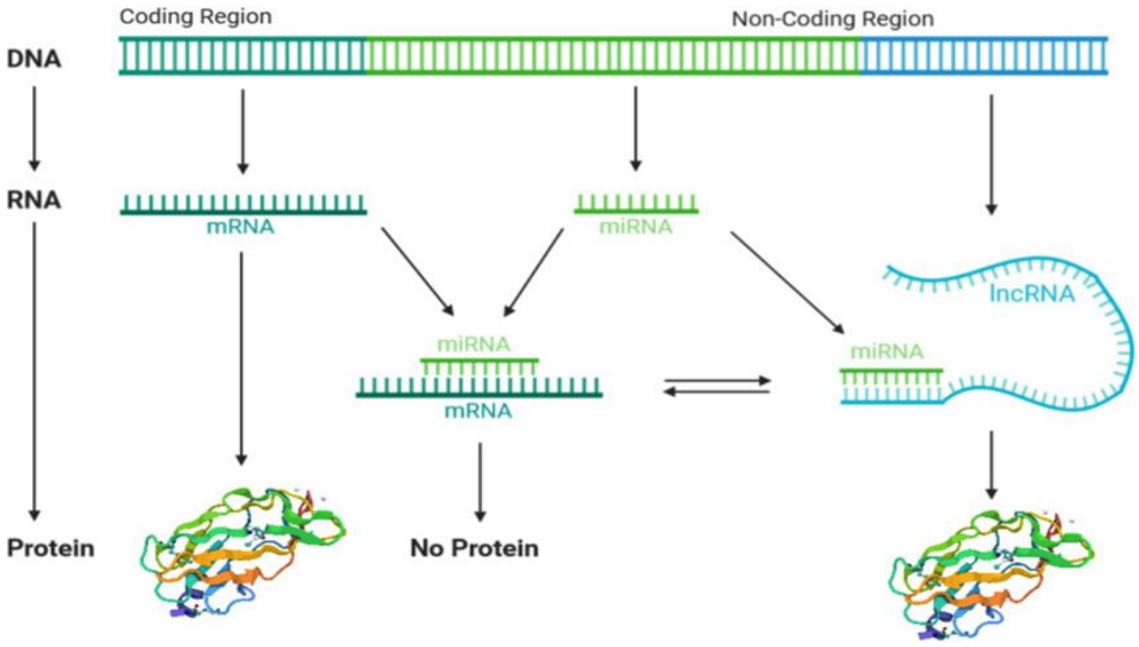
Τα lncRNA όσο και τα miRNA είναι τα ncRNA που συνεχίζουν να μελετώνται εκτενώς για να αποδειχθεί ο ρόλος τους στη δημιουργία νοσημάτων ή να ανακαλυφθεί ο τρόπος χρήσης τους στη θεραπεία νοσημάτων καθώς έχουν ιδιαίτερη δραστηριότητα ως βασικοί επιγενετικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης σε πολλούς ιστούς συμπεριλαμβανομένων και των οστών. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι μεγίστης σημασίας καθώς εμπλέκεται στον έλεγχο διαφορετικών βασικών κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένης της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού.[47,50,53]

Τα lncRNA ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση μέσω διαφόρων μηχανισμών, ενεργώντας τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο, ενώ η κύρια δράση των miRNAs είναι η αρνητική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης με δέσμευση ενός mRNA στόχου επάγοντας την αποδόμηση ή την αναστολή της μετάφρασης του.[47,50] Επομένως, τα lncRNAs και τα miRNAs ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων και ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την οστεογένεση, πιο συγκεκριμένα η αλληλεπίδραση των lncRNA με τα miRNA επιτρέπει την εύρυθμη λειτουργία του μυοσκελετικού συστήματος του ανθρώπου, τον έλεγχο της ομοιόστασης και της

ανακατασκευής των οστών, αλλά και την οστεογονική διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων, MSC.[50] Γενικότερα δρουν ως κύριοι ρυθμιστές τόσο της φυσιολογικής ανάπτυξης των οστών όσο και της εμφάνισης νόσου όταν τροποποιηθεί η έκφραση τους, ενώ τίθεται το ζήτημα για την εύρεση του τρόπου με βάση τον οποίο δύναται να χρησιμοποιηθούν τόσο ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι όσο και ως διαγνωστικοί βιοδείκτες.[4,47]

Δηλαδή, παρότι έχει συνδεθεί η παρουσία των ncRNA με την εμφάνιση νοσημάτων των οστών ή κακοηθειών δεν έχει τεκμηριωθεί ποια ncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν ως προγνωστικοί βιοδείκτες για την ανίχνευση μελλοντικού κίνδυνου εμφάνισης νόσου ώστε να μπορεί να υπάρξει η δυνατότητά αναστολής της ή να μπορεί να εκτιμηθεί με ακρίβεια το μέγεθος της απόκρισης στη θεραπεία εξαιτίας της έκφρασης τους.[4]

Οι δράσεις των lncRNAs και miRNAs αλληλοσυνδέονται εξαιτίας του τρόπου που ρυθμίζει το ένα το άλλο πιο συγκεκριμένα δηλαδή η ρύθμιση που πραγματοποιείται στα lncRNAs από τα miRNAs, αλλά και η ρύθμιση των miRNAs από lncRNAs.[50,54] Στην πρώτη περίπτωση πραγματοποιείται η αποικοδόμηση των lncRNAs από miRNAs, δηλαδή το miRNA συνδέεται με το lncRNA στόχο στο 3′UTR οδηγώντας έτσι στην αποδόμηση του mRNA με αποτέλεσμα την αρνητική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Στην δεύτερη περίπτωση που είναι η ρύθμιση των miRNAs από lncRNAs, περιλαμβάνει διαφορετικούς μηχανισμούς καθώς ρυθμίζονται και θετικά και αρνητικά. Αρχικά τα lncRNAs μπορούν να ρυθμίσουν θετικά την έκφραση των miRNA σχηματίζοντας σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης με ένζυμα που εμπλέκονται στην ακετυλίωση της ιστόνης και στη μεθυλίωση του DNA, όπως επίσης και εξαιτίας της δράσης του lncRNA ως ικαριώματα που βοηθούν την σύνδεση των πρωτεϊνών με το γονιδίωμα του DNA, προάγοντας έτσι την γονιδιακή έκφραση με την ταυτόχρονη δράση των miRNA. Από την άλλη μεριά όμως, δύναται να ρυθμίσουν και αρνητικά την έκφραση των miRNA ανταγωνιζόμενοι με το mRNA ώστε να δεσμεύσουν τις θέσεις δέσμευσης των miRNA και να αλλάξουν την φυσιολογική ρύθμιση των γονιδίων που ήταν ο στόχος των miRNA, δηλαδή τα lncRNAs λειτουργούν και ως ανταγωνιστικά ενδογενή RNA (ceRNAs) αποτρέποντας την ανασταλτική δράση των miRNA στα mRNA στόχους.[50]



Εικόνα 3. Η σύνδεση μεταξύ μακρών μη κωδικών RNA (long non coding, lncRNAs) και μικρών ή κοντών μη κωδικών RNA (microRNAs, miRNAs)[50]

Τα lncRNAs και τα miRNA μεταγράφονται και τα δύο από μια μη κωδικοποιητική περιοχή του γονιδιώματος, ενώ ταυτόχρονο μεταγράφονται και τα mRNA. Τα lncRNAs ανταγωνίζονται τα mRNAs για να δεσμεύσουν τους στόχους του miRNA, ενεργώντας ως 'σφουγγάρι' των miRNAs καταργώντας έτσι την ανασταλτική δράση του miRNA. Η δέσμευση miRNA-mRNA έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης, ενώ η σύνδεση lncRNA-miRNA επιτρέπει τη μετάφραση της πρωτεΐνης.

3.2 microRNAs

Τα miRNAs ανακαλύφθηκαν πρώτη φορά στο Caenorhabditis elegans,[53] έκτοτε έχουν αναγνωριστεί πάνω από 2000 miRNAs και έως και το 60% του ανθρώπινου γονιδιώματος (που κωδικοποιεί πρωτεΐνες) μπορεί να ρυθμιστεί από miRNAs.[5,30,53]

Τα miRNAs είναι ενδογενή μονοκλωνικά μικρά μη κωδικά RNA[53] και σχετίζονται με τον μεταβολισμό των οστών και τα νοσήματα του καθώς έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων (αρνητική έκφραση) που ελέγχουν τη διαφοροποίηση των

οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση του mRNA και την αναστολή της μεταγραφής του.[5,30,47,56]

Η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών ως γνωστών είναι η πιο σημαντική διαδικασία στην διατήρηση της ομοιόστασης των οστών, οποιαδήποτε διαταραχή της δύναται να οδηγήσει σε εμφάνιση νοσήματος. Τα τελευταία χρόνια, βάση μελετών έχει αποδειχθεί πως πολλά miRNA ρυθμίζουν άμεσα, είτε θετικά είτε αρνητικά, την οστεοβλαστογένεση και την οστεοκλαστογένεση, αλληλεπιδρώντας με συγκεκριμένους παράγοντες που εμπλέκονται στον έλεγχο αυτών των δύο διεργασιών και θα αναλυθούν στη συνέχεια.[5,30] Τρεις μηχανισμοί είναι αυτοί που ενοχοποιούνται για την μη σωστή λειτουργία συγκεκριμένων miRNA που βρίσκονται στον ιστό των οστών, οδηγώντας έτσι στην εμφάνιση της οστεοπόρωσης ή άλλων διαταραχών του μεταβολισμού των οστών. Αυτοί οι μηχανισμοί αφορούν: α) την αλλαγή της έκφρασης τους, β) τις μεταλλάξεις των γονιδίων που επηρεάζουν τις θέσεις σύνδεσης τους στο 3'UTR των mRNA στόχων με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση του mRNA και την αναστολή της μεταγραφής και γ) η διαταραχή της έκφρασης των miRNA που εμπλέκονται στον έλεγχο της διαφοροποίησης και της δράσης των οστεοβλαστών και/ή των οστεοκλαστών.[5,30,56]

Επίσης τα miRNAs ρυθμίζουν τις περισσότερες βιολογικές διεργασίες των κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης, της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού, του μεταβολισμού καθώς και της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως κάθε miRNA έχει έναν συγκεκριμένο αριθμό mRNA στόχων και πολλά miRNAs μπορούν να στοχεύουν στο ίδιο mRNA.[5,30,53] Τα γονίδια που κωδικοποιούν miRNA βρίσκονται σε ολόκληρο το ανθρώπινο γονιδίωμα, ενώ ένα μεγάλο ποσοστό τους εντοπίζεται συγκεντρωμένο σε ομάδες και περιλαμβάνουν διάφορα miRNAs.[47] Πιο συγκεκριμένα, τα miRNAs αντιπροσωπεύουν το 1%-5% του ανθρώπινου γονιδιώματος και ρυθμίζουν τουλάχιστον το 30% των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.[56]

Τα miRNAs δεν εντοπίζονται μόνο στο κύτταρο ή το κυτταρόπλασμα αλλά ανιχνεύονται στον ορό του αίματος, το πλάσμα, τα ούρα, το μητρικό γάλα καθώς και σε άλλα σωματικά βιολογικά υγρά. Αυτά τα κυκλοφορούντα miRNAs μεταφέρουν γενετικές πληροφορίες μεταξύ κυττάρων ή ιστών και έχουν μεγάλη αξία ως διαγνωστικοί βιοδείκτες σε διάφορα νοσήματα καθώς είναι εξαιρετικά σταθερά και ανθεκτικά μόρια παρότι δέχονται την δράση των ριβονουκλεασών RNase, που είναι ένας τύπος νουκλεάσης που καταλύει την

αποικοδόμηση του RNA σε μικρότερα συστατικά, διατηρούν την σταθερότητα τους είτε διότι προσδένονται σε πρωτεΐνες είτε ενσωματώνονται σε διάφορες μορφές κυστιδίων ή μικροσωματιδίων.[47] Η στοχευμένη μέτρηση συγκεκριμένων κυκλοφορούντων miRNAs στον ορό του αίματος ή στο πλάσμα πιθανόν να εντοπίσει άτομα τα οποία έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης και καταγμάτων ευθραστότητας ή ακόμα να μπορεί να ελέγχεται το μέγεθος που ο ασθενής αντέδρασε θετικά σε κάποια θεραπευτική αγωγή.[5]

Η αρνητική ρύθμιση της έκφρασης των miRNAs εκτός από την πρόκληση νοσημάτων σχετίζεται και με την εμφάνιση κακοηθειών συμπεριλανβανομένου και της κακοήθειας που σχετίζεται με τα οστά. Επομένως, με την ανίχνευση και μέτρηση των κυκλοφορούντων miRNAs μπορεί να επιτευχθεί η έγκαιρη διάγνωση της νόσου, η καλύτερη παρακολούθηση της εξέλιξης της, αλλά και η αποδοτικότητα της θεραπείας είτε του ίδιου του καρκινικού όγκου είτε των μεταστάσεων του.[56]

3.2.1 Ο ρόλος των miRNAs στην οστεογένεση

Τα miRNA επιτελούν σημαντικές λειτουργίες και έχουν κύριο ρόλο στη ρύθμιση της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης τόσο των οστεοκλαστών όσο και των οστεοβλαστών. Οποιαδήποτε μεταβολή της έκφρασης τους ή και η πλήρη απώλεια τους μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση νοσημάτων των οστών ή βλάβες. Συγκεκριμένα σε μελέτες αποδείχθηκε πως η γενετική διαγραφή του Dicer, το οποίο είναι ένα ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την ωρίμανση και την ενεργοποίηση όλων των miRNA σε πρώιμους οστεοβλάστες και οστεοκλάστες, οδηγεί σε σοβαρή μείωση της διαφοροποίησης αλλά και της ωρίμανσης των οστεοβλαστών με αποτέλεσμα να προκύψουν μεταβολές αλλάζοντας έτσι την φυσιολογική δομή του οστικού ιστού και της διαδικασίας της ανοργανοποίησης της ECM, με αποτέλεσμα να προκύπτουν βλάβες ή να οδηγούνται στη μείωση του αριθμού των οστεοκλαστών με αποτέλεσμα την μείωση της απορρόφησης των οστών και την εμφάνιση νοσημάτων όπως είναι η οστεοπόρωση.[5]

Είναι λοιπόν γνωστός και αποδεκτός ο σημαντικός ρόλος των miRNAs στη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοβλαστών καθώς έτσι μπορούν και ρυθμίζουν την λειτουργία των γονιδίων Runx2 και Osterix, την λειτουργία των μορφογενετικών πρωτεϊνών των οστών (BMPs) αλλά και των παραγόντων της ενδοκυτταρικής οδού σηματοδότησης Wnt/β

κατενίνης.[4,30] Από την άλλη μεριά, γίνεται ένας μεγάλος αριθμός μελετών ώστε να εξηγηθεί ο ρόλος των miRNAs στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών μέσω του ενεργοποιητή υποδοχέα του συστήματος RANKL/OPG, που είναι πολύ βασικός στον μεταβολισμό των οστών και μπορεί να ρυθμίσει τόσο τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών όσο και την οστεόλυση.[4,30] Τέτοια miRNAs είναι το miR-21, το miR-155 και το miR-223.[5]

Το Osterix (Osx), όπως έχει προαναφερθεί, είναι ένας απαραίτητος παράγοντας ώστε να ενεργοποιηθεί η δράση και λειτουργία συγκεκριμένων γονιδίων που εμπλέκονται στην διαδικασία της οστεογένεσης σε έμβρυα ή του σχηματισμού οστού στους ενήλικες. Το Osx επιτελεί σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση του Runx2 και έτσι επιτυγχάνεται η διαφοροποίηση των πρόδρομων οστεοβλαστών σε ώριμους και λειτουργικούς οστεοβλάστες.[14] Η χρησιμότητα του έχει αναφερθεί και σε πιθανή μελλοντική θεραπευτική χρήση για την επιτυχημένη αποκατάσταση τραυματισμών των οστών.[14]

Έχουν βρεθεί 14 miRNAs τα οποία είναι: το miR-23a, το miR-34c, το miR-133a, το miR-135a, το miR-137, το miR-204, το miR-205, το miR-211, το miR-217, το miR-218, το miR -335, το miR-338, το miR-433 και το miR-3077-5p καθώς και μια οικογένεια miRNAs τα miR-30 που αποτελούνται από το miR-30a, το miR-30b, το miR-30c και το miR-30d τα οποία στοχεύουν το 3′UTR του Runx2, τον κύριο παράγοντα μεταγραφής στη διαφοροποίηση οστεοβλαστών. Αυτά τα miRNAs ελέγχουν την οστεογονική διαφοροποίηση σε διαφορετικά επίπεδα, εμποδίζοντας την ωρίμανση των προ-οστεοβλαστών σε ώριμους οστεοβλαστές ή οδηγούν τα MSC σε λιπογενή διαφοροποίηση. Τα παραπάνω miRNAs θα μπορούσαν να είναι νέοι υποσχόμενοι θεραπευτικοί στόχοι για την ανάπτυξη προληπτικών ή θεραπευτικών παραγόντων κατά των οστεογονικών διαταραχών.[5,57,58] Τέλος τα miR-30 μπορούν επίσης και να εμποδίσουν την οστεογένεση από ώριμα χονδροκύτταρα.[56]

Αντίθετα, δύο miRNAs, το miR-2861 και το miR-3960, έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν έμμεσα έκφραση Runx2 στοχεύοντας τους αναστολείς HDAC5 και HOXA2 με αποτέλεσμα να προωθούν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Υπάρχουν και άλλα δύο miRNAs το miR-2861 και το miR-3960 που αποδείχθηκε ότι συνδέεται άμεσα με τους υποκινητές τους ρυθμίζοντας έτσι θετικά την έκφραση τους, σε περίπτωση όμως αρνητικής ρύθμισης τους προκύπτει η μείωση της οστεοβλαστογένεσης.[5,59,61]

Άλλη μελέτη έδειξε ότι, η υπερέκφραση του miR-375 ανέστειλε την οστεογονική διαφοροποίηση στοχεύοντας το Runx2, με την ταυτόχρονη μείωση της έκφρασης της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) και της οστεοκαλσίνης (BGP).[30]

Εν συνεχεία έχει αποδειχθεί ότι τα miR-27a και miR-96 ρυθμίζουν την οστεογένεση στοχεύοντας το Osx, μπορούν δηλαδή να καταστείλουν την οστεογονική διαφοροποίηση μειώνοντας την έκφραση του Osx. Από την άλλη μεριά όμως, υπάρχουν και κάποια miRNAs όπως το miR-322 και το miR-510 που μπορούν και ρυθμίζουν έμμεσα την έκφραση του Osx μέσω άλλων γονιδίων.[27]

Τα miRNA που έχουν λάβει το ενδιαφέρον των ερευνητών και μελετήθηκαν περισσότερο για τον ρόλο τους στη ρύθμιση της χονδρογένεσης είναι το miR-140 και το miR-127-5p. Το miR-140 αποδείχθηκε ότι στοχεύει το γονίδιο Sp1 προκειμένου να διατηρήσει την διαδικασία του πολλαπλασιασμού των χονδροκυττάρων, ενώ η υπερέκφραση του miR-127-5p φαίνεται ότι προάγει τη χονδρογένεση, αποτρέποντας έτσι την υπερτροφική διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων.[56]

Ο αυξητικός παράγοντας βήτα TGF-β, όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, συνεργάζεται με την οδό σηματοδότησης Wnt για την επίτευξη της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών που προέρχονται από MSCs. Οι υποδοχείς TOP-β1, TOP-β2 και TOP-β3 επάγουν την διαδικασία της χονδρογένεσης από τα MSC. Πιο συγκεκριμένα το miRNA-337 ρυθμίζει την έκφραση του υποδοχέα TOP-β2 στοχεύοντας αρνητικά το γονίδιο TGFBR2 το οποίο επιτελεί καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του χόνδρου. Αναλυτικότερα κατά την διάρκεια των φάσεων ωρίμανσης των κυττάρων κατά την ενδοχονδριακή οστεοποίηση το miR-337 υποεκφράζεται. Από την άλλη μεριά έχει βρεθεί πως και το miR-139b συντελεί στην διαδικασία της χονδρογένεσης στοχεύοντας και αυτό το γονίδιο TGFBR2, ενώ η απώλεια του miR-17-92 φαίνεται να μειώνει τον πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών προδρόμων οστεοβλαστών (MPC) καθώς συμβαίνει η καταστολή της σηματοδότησης TGF-β.[56]

Οι BMPs, που είναι μέλη της οικογένειας του TGF-β, και οι μορφογενετικοί υποδοχείς πρωτεΐνης των οστών (BMPRs) είναι γνωστό ότι είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες στη σκελετική ανάπτυξη, αναγέννηση και ομοιόσταση των οστών. Στην διαδικασία της οστεογένεσης έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα miRNA ρυθμίζουν αρνητικά την επαγόμενη από BMP οστεοβλαστογένεση, όπως είναι το miR-93-5p, το miR-98 και το miR-140-5p, τα οποία αναστέλλουν την οστεογονική διαφοροποίηση των MSCs με άμεση στόχευση του BMP-2.[56]

Επίσης, στη φάση της χονδρογένεσης, τα BMPs έχουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο με το miR-92a να έχει αναγνωριστεί ως βασικός ρυθμιστής στη διαδικασία της ρύθμισης της οδού σηματοδότησης BMP με το γονίδιο Noggin3 (Nog3), που είναι ένας ανταγωνιστής των BMP, να έχει αναγνωριστεί ως ο άμεσος στόχος του miR-92a.[56]

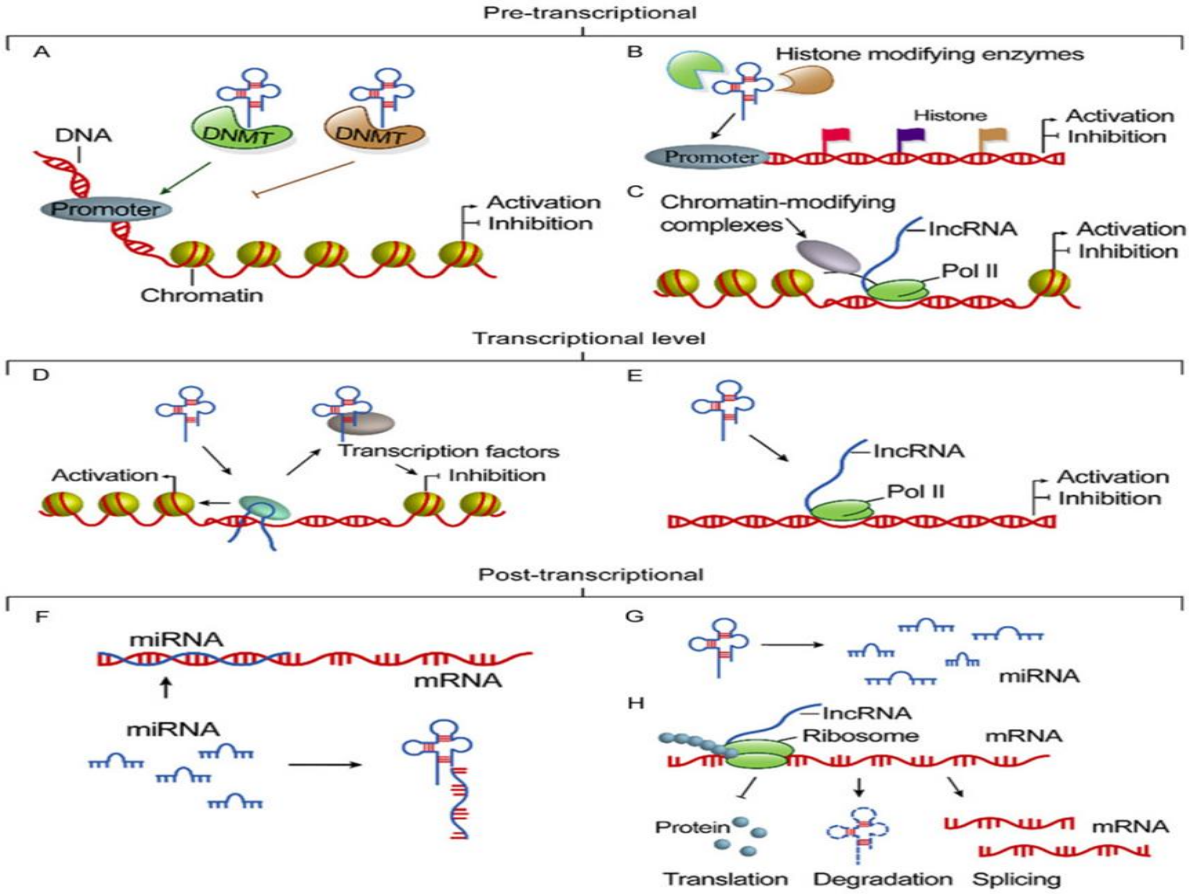
Τέλος, υπάρχουν και miRNA που ρυθμίζουν και την οδό σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης παρεμβαίνοντας έτσι στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Παράδειγμα ενός τέτοιου miRNA είναι το miR-29a, του οποίου η δράση ενισχύεται υπό την φυσιολογική λειτουργία σηματοδότησης Wnt και η έκφραση τους αυξάνεται κατά τη διάρκεια της οστεογονικής διαφοροποίησης των MSC. Επίσης, το miR-29a στοχεύει τους υποδοχείς των γονιδίων Dikkopf-1 (DKK1), του Kremen 2 και της εκκρινόμενης σχετιζόμενης πρωτεΐνης 2 (SFRP2), που είναι αρνητικοί ρυθμιστές της σηματοδότησης Wnt, αναστέλλοντας την έκφραση τους ενισχύοντας έτσι την επίδραση της σηματοδότησης Wnt και επιπρόσθετα προωθείται η έκφραση της ρύθμισης γονιδίων Wnt που ευνοούν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τον σχηματισμό των οστών.[5]

Δεδομένων των σημαντικών ρόλων των miRNAs στην φυσιολογική ρύθμιση της ανάπτυξης και λειτουργίας των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, η απορρύθμιση της δραστηριότητας του miRNA είναι σίγουρα ένας σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη νοσημάτων των οστών αλλά και θεραπευτικών προσεγγίσεων που θα αναλυθούν στην συνέχεια.[5]

3.3 lncRNAs

Τα lncRNAs είναι μια κατηγορία πολύ δομημένων αντιγράφων RNA που είναι μη κωδικά, δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες, και έχουν μήκος άνω των 200 νουκλεοτιδίων (nt).[3,48,50,53] Ανακαλύφθηκαν πρώτη φορά το 1980 σε ποντίκια όπου ταυτοποιήθηκε το lncRNA H19, που αρχικά λόγω έλλειψης γνώσεων ταξινομήθηκε ως mRNA. Από τότε έως σήμερα έχουν βρεθεί ήδη 118.770 ανθρώπινα lncRNAs σύμφωνα με το lncipedia.org[49] και από αυτά έχουν μελετηθεί πάνω από 17.000 που απαντώνται είτε στον πυρήνα του κυττάρου είτε στο κυτταρόπλασμα και είναι καταχωρημένα στη βάση δεδομένων Human Gencode.[3,50]

Η δραστηριότητα των lncRNAs δεν είναι μια, άλλα επιτελούν πολλαπλές δραστηριότητες που είναι βασισμένες σε διάφορους μηχανισμούς για παράδειγμα, συμβάλουν στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης και στην ρύθμιση των παραγόντων μεταγραφής, στον αποκλεισμό της περιοχής που προάγει συγκεκριμένα γονίδια και τέλος σχηματίζουν δίκλωνα σύμπλοκα RNA με mRNA ή miRNA οδηγώντας σε ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μετά-μεταγραφικό επίπεδο.[3,50]

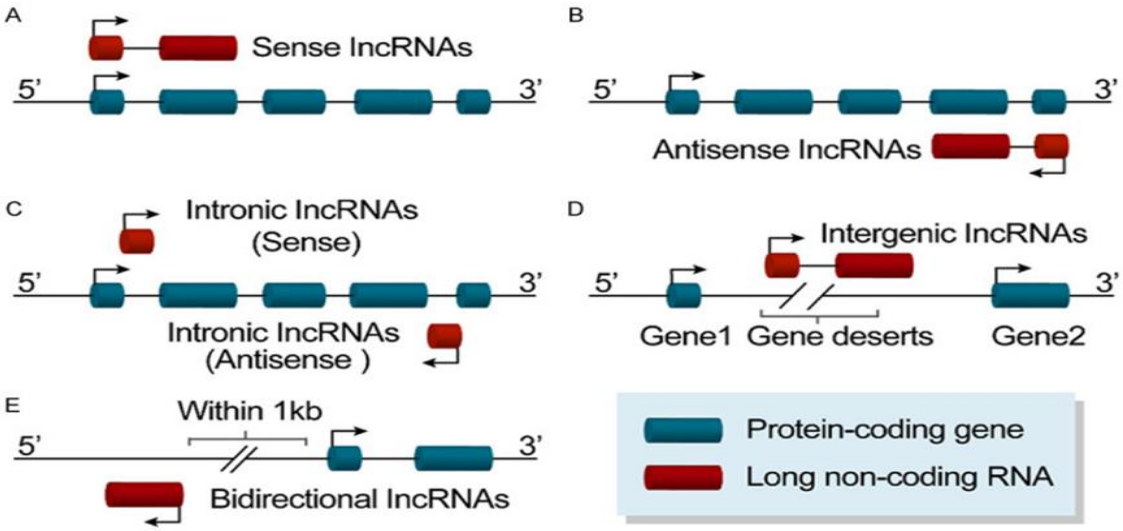


Εικόνα 4. Λειτουργίες και μηχανισμοί των lncRNAs.[29]

Α. Τα lncRNAs μπορούν να ρυθμίσουν τη μεθυλίωση του DNA των γονιδίων στόχων δεσμεύοντας την μεθυλτρανσφεράση του DNA, αναστέλλοντας έτσι ή προωθώντας την έκφραση του γονιδίου στόχου. Β. Τα lncRNAs μπορούν να στρατολογήσουν ένζυμα τροποποίησης ιστόνης για να ρυθμίσουν την τροποποίηση ιστόνης, ρυθμίζοντας έτσι τη μεταγραφή γονιδίων. C. Τα lncRNAs μπορούν να στρατολογήσουν σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης σε συγκεκριμένους γονιδιωματικούς τόπους, αναστέλλοντας ή προωθώντας

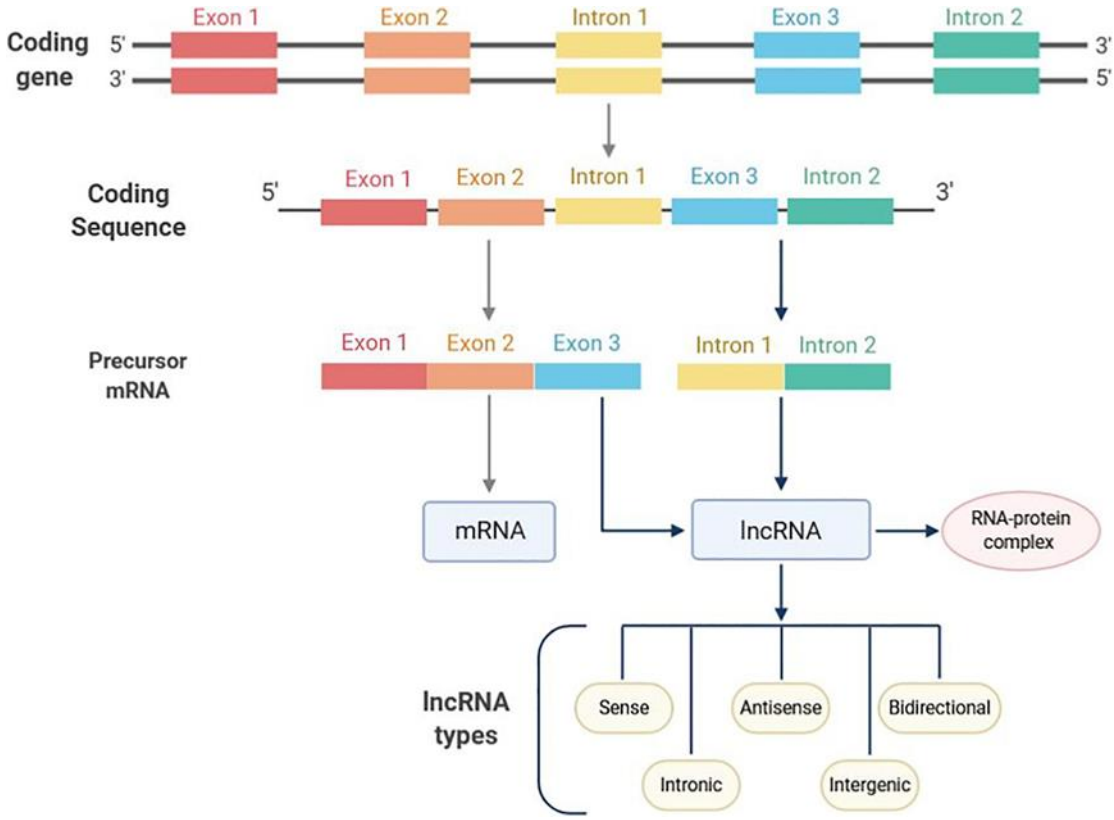
έτσι την έκφραση των κατάντη γονιδίων. D. Τα lncRNAs μπορούν να αλληλεπιδράσουν με παράγοντες μεταγραφής και στη συνέχεια να τους αποτρέψουν από τη δέσμευση της χρωματίνης, ρυθμίζοντας έτσι τη μεταγραφή του γονιδίου. E. Τα lncRNAs μπορούν να αλληλεπιδράσουν άμεσα με το Pol II, επηρεάζοντας έτσι την έκφραση των κατάντη γονιδίων. F. Τα lncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδογενείς σπόγγοι miRNA δεσμευοντάς τα, λειτουργόντας ανταγωνιστικά με miRNA. G. Τα lncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν ως πρόδρομα μόρια για τη δημιουργία διαφορετικών miRNA. H. Τα lncRNAs μπορούν να συνδεθούν άμεσα με τα mRNA και στη συνέχεια να ρυθμίσουν την αποικοδόμησή τους, τη μετάφραση και το μάτισμα.

Τα lncRNAs ταξινομούνται σε δύο κύριες υποομάδες με βάση τη γονιδιωματική τους θέση, α) τα διαγονιδιακά lncRNAs (Integenic lncRNAs) που μεταγράφονται από διαγονιδιακές περιοχές που δεν αλληλεπικαλύπτονται με κανένα άλλο γνωστό κωδικοποιητικό γονίδιο, και έχουν τους δικούς τους προαγωγείς και ρυθμιστικά στοιχεία και β) τα ενδογενή lncRNAs (Endogenous lncRNAs) αλληλεπικαλύπτονται με περιοχές που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και μπορούν να χωριστούν σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με τη θέση τους στο σχετικό γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη και είναι το νόημα (Sense lncRNAs) που μεταγράφονται από τον ίδιο κλώνο ενός κωδικοποιητικού γονιδίου, τα αντιπληροφοριακά (Antisense lncRNAs) που μεταγράφονται στον αντίθετο κλώνο, τα αμφίδρομα (Bidirectional lncRNAs) που προέρχονται από την αντίθετη κατεύθυνση αν και μοιράζονται τον ίδιο προαγωγό του γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνη και τα ιντρονικά (Intronic lncRNAs) που προέρχονται εξ ολοκλήρου από ιντρόνια εντός κωδικοποιητικών γονιδίων.[3,47,50]



Εικόνα 5. Ταξινόμηση των lncRNA με βάση τη γονιδιωματική τους θέση σε σχέση με τα γειτονικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.[29]

Α. Τα sense (Νόημα) lncRNAs, τα οποία μεταγράφονται από το νόημα γονιδιωματικό σκέλος των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Β. Τα αντιπληροφοριακά lncRNAs, τα οποία μεταγράφονται από τον αντινοηματικό γονιδιωματικό κλώνο γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. C. Τα ιντρονικά lncRNAs, τα οποία μεταγράφονται εξ ολοκλήρου από ιντρόνια γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. D. Τα διαγονιδιακά lncRNAs (ή lincRNAs), τα οποία μεταγράφονται από το διάστημα μεταξύ δύο ανεξάρτητων γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Ε. Τα αμφίδρομα lncRNAs, τα οποία μεταγράφονται στην αντίθετη κατεύθυνση από τα γειτονικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (εντός 1 kb).



Εικόνα 6. Ταξινόμηση των lncRNAs με βάση τον τόπο που εντοπίζονται.[50]

Η μεταγραφή των lncRNAs συμβαίνει κυρίως σε περιοχές με ενδονήματα. Οι περιοχές ενίσχυσης και προαγωγού μπορούν επίσης να υποβληθούν σε μεταγραφή lncRNAs. Με βάση τη γονιδιωματική θέση, τα lncRNAs μπορούν να χωριστούν σε πέντε κατηγορίες, όπως νόημα, αντιπληροφοριακό, αμφίδρομο, ιντρονικό και διαγονιδιακό lncRNA. Μετά τη βιοσύνθεση, τα lncRNAs σχηματίζουν ένα σύμπλοκο το οποίο περιλαμβάνει έναν αριθμό πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν για να σφουγγίσουν τελικά στόχους miRNA.

Τα lncRNAs, έχουν χαρακτηριστεί ως ρυθμιστικά μόρια της γονιδιακής έκφρασης και φαίνεται ότι εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και τη δραστηριότητα τόσο των οστεοβλαστών όσο και των οστεοκλαστών. Τα lncRNAs έχουν χαρακτηριστεί ως πιθανοί μοριακοί βιοδείκτες που θα βοηθήσουν στην έγκαιρη διάγνωση διαταραχών που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των οστών, αλλά και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών.[3]

3.3.1 LncRNAs στην οστεογονική διαφοροποίηση

Οι λειτουργίες των lncRNAs δεν είναι οι ίδιες με αυτές των miRNAs και χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη πολυπλοκότητα. Εκφράζονται σε χαμηλότερο επίπεδο αλλά παρατηρείται ότι εκφράζονται σε αρκετές λειτουργίες των κυττάρων συγκριτικά με αυτή των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.[47]

Τα lncRNAs ομαδοποιούνται σύμφωνα με το επίπεδο δράσης τους στις αλλαγές έκφρασης σε: α) lncRNAs που ενεργούν ως ρυθμιστές της μεταγραφής, αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα στον πυρήνα καθώς και στο κυτόπλασμα μέσω αλληλεπίδρασης των lncRNAs με παράγοντες μεταγραφής, δρουν στην επεξεργασία των mRNA β) lncRNAs που δρουν στην επεξεργασία των mRNA, γ) lncRNAs που εμπλέκονται σε μετα-μεταγραφικούς μηχανισμούς ελέγχου, δηλαδή αυτά τα lncRNAs μπορούν να δεσμεύσουν τα miRNAs και να τα εμποδίσουν να εφαρμόσουν τη δράση τους στους εκάστοτε στόχους τους.[47]

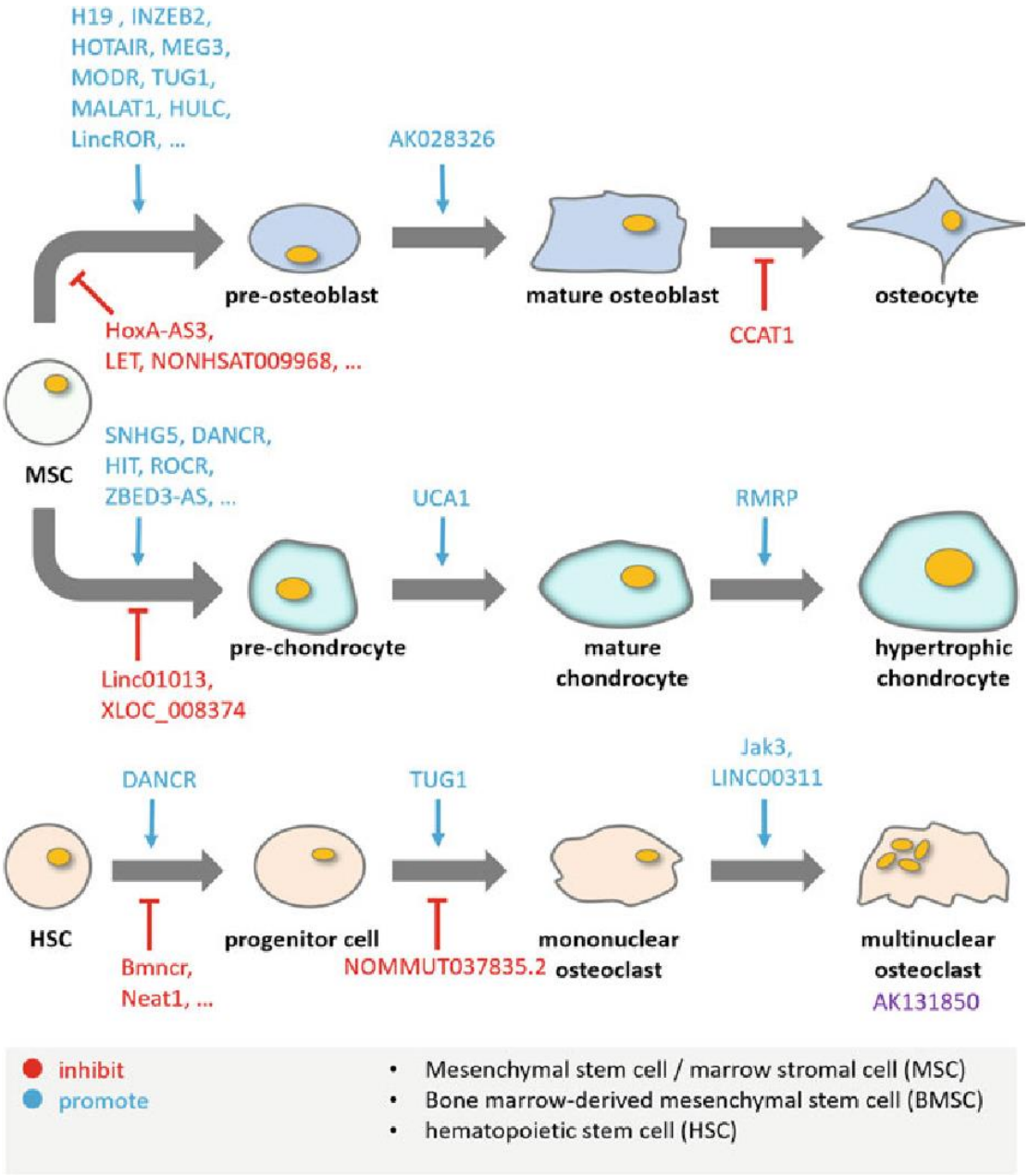
Τα lncRNAs όπως είναι γνωστό συμμετέχουν σε διάφορους επιγενετικούς μηχανισμούς μέσω της στρατολόγησης συμπλόκων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης σε συγκεκριμένους γονιδιωματικούς τόπους. Μια άλλη λειτουργία τους όμως έγκειται στην ικανότητα τους να ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση αλληλοεπιδρώντας με πρωτεΐνες σε διαδικασίες όπως η σύνθεση των πρωτεϊνών, η απόπτωση των κυττάρων, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου, η διαδικασία της εναλλαγής του ματίσματος αλλά και στη ρύθμιση της δομής της χρωματίνης.[4] Το 1991 το Xist αποδείχθηκε ότι εμπλέκεται στην περίπλοκη ρύθμιση της απενεργοποίησης του Χ-χρωμοσώματος (XCI). Η λειτουργία του XCI διασφαλίζει ότι στα θηλυκά θηλαστικά τα περισσότερα γονίδια που υπάρχουν στο Χ χρωμόσωμα σιωπούν, σταματά δηλαδή η έκφραση τους ώστε να διορθωθεί ό αριθμός τους καθώς υπάρχει διπλάσια ποσότητα τους εξαιτίας των δύο Χ χρωμοσωμάτων.[47]

Τα lncRNAs, όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω επιτελούν πολλές χρήσιμες και σημαντικές λειτουργίες καθώς εμπλέκονται στην ρύθμιση του ενισχυτή ενεργοποίησης γονιδίων (eRNAs) και αυτό τους δίνει την δυνατότητα να αλληλοεπιδρούν άμεσα με τους περιφερειακούς γονιδιωματκούς τόπους. Επίσης έχουν την ικανότητα να αλληλοεπιδρούν με miRNA ή και με άλλα είδη ncRNAs, καθώς μπορούν και συνδέονται με μόρια πρωτεΐνης και αυτό τους επιτρέπει να έχουν αρκετές ρυθμιστικές ικανότητες.[4] Δεδομένου ότι ορισμένα lncRNAs ανταποκρίνονται σε διάφορα ερεθίσματα έχουν την δυνατότητα να δρουν ως μοριακά σήματα

για παράδειγμα τα eRNAs παράγουν μεταγραφές lncRNA που η έκφραση τους συσχετίζεται θετικά με την έκφραση των γειτονικών γονιδίων υποδεικνύοντας έτσι τον πιθανό ρόλο που μπορεί να έχουν στη ρύθμιση της σύνθεσης του mRNA.[4]

Τόσο τα lncRNAs όσο και τα miRNAs έχουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των βλαστικών κύτταρων (hBMSCs). Οι οδοί σηματοδότησης που έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία είναι η TGF-β/BMP και η Wnt/β κατενίνη.

Τα lncRNAs που έχουν συσχετιστεί με αυτή τη διαδικασία της οστεογονικής διαφοροποίησης είναι τα: H19, KCNQ1OT1, NEAT1, MALAT1, LINC00707, HULC, HOTAIR, DGCR5, ANCR, DANCR, MEG3 όπου έχει αποδειχθεί ότι έχουν καθοριστικό ρόλο ως ceRNAs στην προώθηση της οστεογονικής διαφοροποίησης των hBMSC.[50] Πιο αναλυτικά το H19 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα πρώτα στάδια της εμβρυικής ανάπτυξης, ενώ σιωπά, σταματά δηλαδή να εκφράζεται, στους περισσότερους τύπους κυττάρων κατά την ενήλικη ζωή του ανθρώπου. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να παρατεθεί ό τρόπος δράσης τόσο του H19 όσο και των παραπάνω lncRNAs σε σχέση με τα miRNAs και η δράση στις ανωτέρω οδούς σηματοδότησης κατά την οστεογονική διαφοροποίηση. Επίσης υπάρχουν και αναδυόμενες αναφορές σχετικά με τον τρόπο ρύθμισης των lncRNA στη διαφοροποίηση του χόνδρου και είναι τα : DANCR, H19, HIT, MEG3, ZBED3-AS1 από MSC αλλά και στην οστεοκλαστική διαφοροποίηση τα DANCR, NEAT1, TUG1 από αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (HSCs) και μονοπύρηνα προγονικά κύτταρα (MNPCs). [52]



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση των lncRNA που πειραματικά έχουν αποδειχθεί ότι συμμετέχουν στη διαφοροποίηση των οστικών κυττάρων [143].

Η δράση του H19 ως ceRNA έχει μελετηθεί στην οδό σηματοδότησης Wnt /β κατενίνη όπου βρέθηκε ότι αλληλεπίδρασε με τα miR-22 και miR-141 προκαλώντας έτσι την αύξηση της ρύθμισης της ALP, των BMPs, OCN και του RUNX2, με αποτέλεσμα την επίτευξη της οστεογένεσης. Αυτή η διαδικασία είναι μεγίστης σημασίας διότι η κανονική δράση των miR-22 και miR-141 είναι η παρεμπόδιση της οστεογένεσης η οποία καταστάλθηκε εξαιτίας της

δράσης του H19.[50] Επίσης, το H19 ενεργεί ως ceRNA του miR-138 για την ανοδική ρύθμιση της καθοδικής κινάσης εστιακής προσκόλλησης (FAK), η οποία είναι ένας βασικός παράγοντας στην οδό της μετα-επαγωγής της οστεογονικής διαφοροποίησης και τέλος έχει αποδειχθεί και η δράση του στην διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ οστεογονικής και λιπογενετικής διαφοροποίησης εξαιτίας της δράσης του στο miR-188 το οποίο έχει αρνητική δράση και καταστέλλει την μεσεγχυματική διαφοροποίηση, επάγει την λιπογενετική διαφοροποίηση, αλλά η έκφραση του H19 παρεμποδίζει την ανασταλτική επίδραση του miR-188, οδηγώντας στην οστεογένεση.[50]

Η ενεργοποίηση της λειτουργίας της δράσης των lncRNAs KCNQ1OT1, LOC103691336, NEAT1 και MALAT1 που προάγουν την οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs και αλληλεπιδρούν με miRNAs που εμπλέκονται στην οδό σηματοδότησης BMP είναι μεγίστης σημασίας. Για παράδειγμα το KCNQ1OT1 που είναι ένα αντιπληροφοριακό lncRNA μπορεί να αλληλεπιδράσει με διαφορετικά miRNAs, το miR-214 είναι ένα από αυτά και έχει αποδειχθεί ότι προάγει την έκφραση του BMP2 κατά τη διάρκεια της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης όπου η σίγαση του έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης των γονιδίων SMAD, RUNX2 και OSX. Από την άλλη μεριά όμως, μπορεί να υπάρξει και η αρνητική ρύθμιση τους αν υπάρξει αναστολή της λειτουργίας του KCNQ1OT1 η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παύση της έκφρασης των παραπάνω γονιδίων που εμπλέκονται στην οστεογένεση.[50] Το KCNQ1OT1 αλληλοεπιδρά και με το miR-320a το οποίο στοχεύει το γονίδιο SMAD5, αυτό έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση του SMAD5 κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των BMSC, οδηγώντας με τη σειρά του στην αυξημένη έκφραση ενός αριθμού γονιδίων που εμπλέκονται στην οστεογένεση, όπως είναι το OCN, το OPN, το RUNX2 και η ALP.[50]

Υπάρχουν όμως και lncRNAs όπως είναι το HOTAIR και MEG3 που ρυθμίζουν αρνητικά την διαδικασία της διαφοροποίησης των BMSCs. Πιο συγκεκριμένα, το HOTAIR με βάση τη μελέτη του Wei et al, το 2017[62] έχει εντοπιστεί να έχει υψηλή έκφραση σε διάφορα νοσήματα των οστών για παράδειγμα σε δείγματα μη τραυματικής οστεονέκρωσης της μηριαίας κεφαλής (ONFH) σε σύγκριση με την οστεοαρθρίτιδα, αυτή η έκφραση συσχετίστηκε αρνητικά με τη δράση του miR-17-5p. Αναλυτικότερα, στην επαγόμενη από BMP2 οστεοβλαστική διαφοροποίηση BMSC, το HOTAIR μείωσε την έκφραση των οστεογονικών δεικτών RUNX2, COL1A1 και ALP δεσμεύοντας miR-17-5p, που είναι αρνητικός ρυθμιστής της έκφρασης SMAD7.[50,62] Το MEG3 ανέστειλε την οστεογένεση σε

hBMSCs που ρυθμίζει θετικά το miR-133a-3p, το οποίο στοχεύει το SLC39A1 γονίδιο που κωδικοποιεί τον μεταφορέα ψευδαργύρου 1 (ZIP1).[63] Ωστόσο, τόσο τα MEG3 όσο και τα miR-133a-3p αυξήθηκαν σε hBMSCs στις περιπτώσεις της οστεοπόρωσης κατά τη φάση μετά την εμμηνόπαυση, ενώ μειώθηκε σημαντικά η διαφοροποίηση των hBMSC σε οστεοβλάστες. Ο ρόλος του MEG3 στην οστεογένεση δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, όμως είναι σίγουρο πως εμπλέκεται σε αυτή τη διαδικασία.[50,63]

Σύμφωνα με τον Cai W L et al, το 2020[64] η οδός σηματοδότησης Wnt/β κατενίνη ρυθμίζεται θετικά από το lncRNA LINC00707 κατά την διάρκεια της διαφοροποίησης των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων καθώς με την δράση του miR-370-3p ή του miR-145 επιτυγχάνεται η αυξημένη έκφραση των γονιδίων WNT2B ή LRP5 αντίστοιχα που είναι δύο σημαντικοί παράγοντες της οδού Wnt/β κατενίνης κατά τη διάρκεια της οστεογονικής διαφοροποίησης. Και σύμφωνα με τη μελέτη του Jiang et al, το 2018[65] αποδείχθηκε ότι η Wnt/β κατενίνη ενισχύεται από το lncRNA HULC με τη συνδρομή του miRNA-195, το οποίο προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την διαφοροποίηση των BMSCs.[48,50]

Τέλος, σύμφωνα με τον Gao et al, το 2018[66] το MALAT1, επίσης γνωστό ως πυρηνικό εμπλουτισμένο αντίγραφο 2 (NEAT2), είναι ένα lncRNA που εμφανίζεται ως ρυθμιστής της οστεογένεσης στα BMSCs, καθώς ρυθμίζει την έκφραση του Osx με την αλληλεπίδραση του με miR-143 που οδηγεί στην μεσεγχυματική διαφοροποίηση.[50]

Υπάρχουν βέβαια και μελέτες λιγότερες σε αριθμό που μελέτησαν τον ρόλο των lncRNAs ως πρόδρομων miRNAs κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των MSCs. Αναλυτικότερα, το H19 έχει αναγνωριστεί ως ένας βασικός θετικός ρυθμιστής της οστεογένεσης με την ρύθμιση της λειτουργάς διαφόρων miRNAs. Πιο συγκεκριμένα σχετίζεται με τρία miR που είναι τα: miR-675, miR-675- 5p και miR-675-3p. Το miR-675 επάγει την οστεογονική διαφοροποίηση των hBMSCs μέσω του μονοπατιού , το TGF-β ενώ αντίθετα το miR-675-5p όσο και το miR-675-3p αναστέλλουν τη διαφοροποίηση οστεοβλαστών στοχεύοντας τη μεταγραφή β-κατενίνης σε hMSCs.[50]

3.3.2 lncRNAs που ρυθμίζουν την οστεοβλαστογένεση

3.3.2.1 lncRNAs ως θετικοί ρυθμιστές

Μια μελέτη των Wang et al, το 2020[67] που αφορά το lncRNA OGRU παρατηρήθηκε αρχικά η μειωμένη του έκφραση κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών. Έτσι εν συνεχεία φρόντισαν να δείξουν στην περίπτωση υπερέκφρασης του τι διαφορά θα υπήρχε και διαπίστωσαν πως όταν το OGRU υπερεκφράζεται δύναται να μετριάσει την μείωση της έκφρασης των γονιδίων που συντελούν στη λειτουργία των κυττάρων pcDNA3.1. Στην συνέχεια χρησιμοποίησαν ως θεραπευτική αγωγή τη χορήγηση των κυττάρων pcDNA3.1 σε ποντίκια και διαπιστώθηκε πως αυτή η θεραπεία οδήγησε σε διακοπή της επαγόμενης οστικής απώλειας. Τέλος, έδειξαν ότι το OGRU δρα ως ceRNA του miR-320-3p για την προώθηση της έκφρασης πρωτεΐνης Hoxa 10 και κατά συνέπεια την επίτευξη του σχηματισμού οστού.[48,67]

Οι Wang et al, το 2020[68] έκαναν μια ακόμα μελέτη με σκοπό να αποσαφηνίσουν την επίδραση του lncRNA AK023948 (AK0) σε μεταεμμηνοπαυσιακούς ΟΡ αρουραίους. Αρχικά, διαπίστωσαν ότι η οδός σηματοδότησης PI3K/ AKT ήταν ρυθμιζόμενη σε αρουραίους με ΟΡ σε σύγκριση με την υγιή ομάδα ελέγχου, υποδεικνύοντας έτσι, ότι αυτή η οδός έχει κύριο ρόλο τόσο στην εμφάνιση όσο και στην ανάπτυξη της ΟΡ. Ακολουθώντας και κάποιες ακόμα δοκιμές διαπίστωσαν ότι το lncRNA AK0 θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο σε μεταεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς με ΟΡ ρυθμίζοντας το μονοπάτι PI3K/ AKT.[48,68]

Η ανάγκη της εύρεσης νέων προληπτικών αλλά και θεραπευτικών μεθόδων για την θεραπεία εκφυλιστικών νοσημάτων των οστών οι Cao et al, το 2020[69] μελέτησαν τον πιθανό ρόλο του lncRNA LINC02349 στις διαδικασίες διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Παρατήρησαν λοιπόν, αύξηση της έκφρασης του και έχοντας ως δεδομένο ότι το LINC02349 θα μπορούσε να δράσει ως ceRNA για ένα συγκεκριμένο miRNA, εξέτασαν 39 miRNAs, μεταξύ των οποίων τα miR-25-3p και miR-33b-5p. Αυτό που διαπιστώθηκε είναι ότι το LINC02349 σπόγγισε άμεσα αυτά τα δύο miRNA με αποτέλεσμα να ρυθμίσει θετικά δύο βασικούς παράγοντες το SMAD5 και το Wnt10b που είναι απαραίτητοι για τη διαδικασίας της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης.[48,69]

Μια πολύ σημαντική μελέτη είναι των Chen et al, το 2020[70] οι οποίοι θέλησαν να μελετήσουν τον ρόλο του lncRNA KCNQ10T1 κατά τη διάρκεια της μετανάστευσης, του

πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης των οστεοβλαστών και κατ' επέκταση αφού αποσαφηνισθεί αυτή η λειτουργία του να συμπεριληφθεί στους πιθανούς στόχους για την θεραπεία ασθενών με κατάγματα. Βρέθηκε λοιπόν, ότι όταν το KCNQ10T1 εμφανίζει μειωμένη ή και απουσία έκφρασης οδηγεί σε καταστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, μείωση στη μετανάστευση τους και υψηλότερα ποσοστά απόπτωσης.[48,70]

Η μελέτη των Wang et al, το 2019[71] είχε ως ζητούμενο τη διερεύνηση του τρόπου βάση του οποίου το lncRNA KCNQ10T1 μπορεί να επηρεάσει την διαφοροποίηση των MSC με την λειτουργία και την συμμετοχή του miR-214. Βρέθηκε λοιπόν ότι τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με το KCNQ1OT1 και τα επίπεδα πρωτεϊνών που σχετίζονται με τους οστεοβλάστες όπως είναι το RUNX2, BMP2, της οστεοποντίνης (OPN) οστεοκαλσίνης (OCN) εμφανίζουν αυξημένη έκφραση, σε σύγκρισημε αυτά του miR-214 που είναι σημαντικά μειωμένη κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της οστεογένεσης.[48,71] Η απουσία ή μειωμένη έκφραση του KCNQ1OT1 στα hBMSCs μειώνει τη δραστηριότητα της ALP και της ανοργανοποίησης της μήτρας του οστού (ECM), καθώς και της λειτουργίας των γονίδιων και των πρωτεϊνών που σχετίζονται με την οστεογένεση ενώ η έκφραση miR-214 είναι ιδιαίτερα ρυθμισμένη, με αποτέλεσμα την αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών.[48]

Μια άλλη μελέτη των Li et al, το 2020[72] είχε ως σκοπό να διερευνήσει τον ρόλο του lncRNA LOC100506178 στην διαδικασία της διαφοροποίησης των hBMSCs. Αυτό που διαπιστώθηκε είναι ότι το LOC100506178 έχει ιδιαίτερα αυξημένη έκφραση σε hBMSCs κατά τη διάρκεια της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης. Εν συνεχεία βρέθηκε ότι ρυθμίζει θετικά το γονίδιο στόχου του miR-214-5p που είναι το BMP2 (Bone Morphogenetic Protein 2). Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί έναν εκκρινόμενο υποκαταστάτη της οικογένειας των πρωτεϊνών TGF-β (μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα βήτα). Τα υποκατάστατα αυτής της οικογένειας δεσμεύουν διάφορους υποδοχείς TGF-β, οδηγώντας σε ενεργοποίηση ορισμένων παραγόντων μεταγραφής της οικογένειας SMAD που ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση. Επομένως, αυτά τα δεδομένα έδειξαν την εμπλοκή αυτού του νέου μοριακού άξονα που αποτελείται από lncRNA LOC100506178 / miR-214-5p/ BMP2 στη διαδικασία διαφοροποίησης οστεοβλαστών hBMSCs.[48,72]

Επιπρόσθετα στην μελέτη των Jia et al, το 2019[73] μελέτησαν το lncRNA LINC00707 στα hBMSC κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διαφοροποίησης. Στη μελέτη αυτή βρέθηκε ότι

η έκφραση του αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διαφοροποίησης γεγονός που υποδηλώνει τη θετική ρύθμιση του LINC00707 στο σχηματισμό οστών. Μια παρόμοια μελέτη οι Jia et al βασισμένη όμως στο μονοπάτι σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης απέδειξε ότι η υπερέκφραση lncRNA LINC00707 οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του γονιδίου στόχου του miR-370-3p που είναι το Wnt2B. Επομένως, αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη ενός νέου ρυθμιστικού δικτύου lncRNA-miRNA, παρέχοντας έτσι έναν υποσχόμενο μελλοντικό στόχο για τη ρύθμιση της οστεογονικής διαφοροποίησης των hBMSC.[48,73]

Μια ακόμα μελέτη που εμπλέκει το μηχανισμό Wnt/β κατενίνης είναι αυτή των Liu et al, το 2019[74] που μελέτησαν το lncRNA TUG1 (Taurine Up-regulated Gene 1) στην οστεογένεση. Βρέθηκε λοιπόν ότι η μειωμένη έκφραση του TUG1 οδηγεί στην έλλειψη του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και ταυτόχρονη μειώσει της έκφρασης των πρωτεϊνών που σχετίζονται με την οδό σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης. Επομένως, γίνεται αποδεκτό ότι η αναστολή ή η μείωση της έκφρασης του TUG1 θα μπορούσε να αναστέλλει την διαδικασία μέσω της καταστολής της δραστηριότητας της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης. Από αυτά προκύπτει το συμπέρασμα ότι το TUG1 θα μπορούσε να δράσει ως ένας θετικός ρυθμιστής για τον σχηματισμού των οστών.[48,74]

Ένα lncRNA πολύ σημαντικό για τη λειτουργία του είναι το GAS5 το οποίο μελέτησαν οι Wang et al, το 2019[75] στη διάρκεια της διαφοροποίησης των MSC. Συγκεκριμένα ανακαλυψάν ότι τα επίπεδα έκφρασης του GAS5 είναι χαμηλότερα στα BMSCs που προέρχονται από ποντικούς OVX σε σύγκριση με της ομάδας ελέγχου. Περαιτέρω μελέτες που έγιναν αποκάλυψαν ότι η υπερέκφραση του GAS5 είναι ικανή να αυξήσει τόσο τα επίπεδα mRNA όσο και των πρωτεϊνών οστεογονικών γονιδίων όπως είναι το RUNX2, το Colla1 και το OCN με αποτέλεσμα και την αύξηση της δραστικότητας της ALP και του σχηματισμό κρυστάλλων υδροξυαπατίτη. Από την άλλη μεριά, η μείωση του GAS5 οδηγεί σε αντίθετα αποτελέσματα κανοντάς φανερό την ικανότητα που έχει να προάγει την διαφοροποίηση των BMSC. Εν συνεχεία θέτοντας ως αποδεκτό ότι το GAS5 και το miR-135a-3p αλληλεπιδρούν απέδειξαν ότι το GAS5 δρα ως ceRNA για το miR-135a-3p, ρυθμίζοντας έτσι την έκφραση του γονιδίου FOXO1 διεγείροντας έτσι τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών.[48,75]

Το lncRNA MALAT1 είναι γνωστό ότι σχετίζεται με τις μεταστάσεις όγκου. Έτσι, οι Yi et al, το 2019[76] προσπάθησαν να δώσουν απαντήσεις σχετικά με την επίδραση του στον τρόπο

έκφρασης του RUNX2 και κατά συνέπεια στην διαδικασία της διαφοροποίησης. Αρχικά αξιολόγηθηκαν τα επίπεδα έκφρασης του MALAT1 και του RUNX2 σε ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από λιπώδη κύτταρα (hADMSCs) διαπιστώνοντας ότι και οι δύο παράγοντες αυξάνονται, ενώ η έκφραση miR-30 μειώνεται. Συμπερασματικά, κατάφεραν να δείξουν ότι το MALAT1 θα μπορούσε να δρά ως σφουγγάρι για το miR-30 ώστε να μπορεί να προωθηθεί η έκφραση του RUNX2 και συνεπώς η διαδικασία της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης.[48,76]

Τέλος, έχουν πραγματοποιηθεί δύο μελέτες ώστε να αξιολογηθεί εάν το lncRNA H19 έχει σημαντικό ρόλο στην οστεογένεση των hBMSCs ρυθμίζοντας την έκφραση miRNA με σκοπό να τεθεί ως ένας μελλοντικός σημαντικός θεραπευτικός στόχος για νοσήματα των οστών. Οι μελέτες έγιναν από τους Li et al, το 2019[77] και τους Wu et al το 2019[78] όπου παρατήρησαν ότι το H19 βρέθηκε να έχει αυξημένη έκφραση και αυτό οδηγεί στην αναστολή της ανοργανοποίησης της μήτρας των οστεοβλαστών. Ο σκοπός ήταν να μελετηθεί ο τρόπος που αυτή η γνώση θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία νοσημάτων των οστών.[50]

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από την μελέτη των Li et al δείχνουν ότι η αυξημένη έκφραση του H19 ενισχύει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών αυξάνοντας την έκφραση του γονιδίου στόχου του miR-149 που είναι το SDF-1, μειώνοντας όμως ταυτόχρονα την έκφραση το miR-149 σε hBMSCs.[50,77]

Ενώ τα αποτελέσματα της μελέτης των Wu et al δείχνουν ότι το H19 θα μπορούσε ρυθμίσει την έκφραση του αυξητικού παράγοντα της ινσουλίνης 1 (IGF-1) δρώντας ως "σφουγγάρι" του miR-185-5p, προωθώντας έτσι την διαφοροποίηση των hBMSCs σε οστεοβλάστες.[50,78]

3.3.2.2 lncRNAs ως αρνητικοί ρυθμιστές

Από μελέτη που έγινε από τους Chen et al, το 2019[79] βρέθηκε ότι το lncRNA XIST υπερεκφράστηκε σε ασθενείς με OP. Η υπερέκφραση του αυτή είχε ως αποτέλεσμα την αναστολη της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών των BMSC η οποία οφείλεται στην μείωση της δραστηριότητας της ALP και στη μείωση της ορυκτοποίησης των οστών.[48]

Εν συνεχεία, οι Shen et al, το 2019[80] μελετώντας την λειτουργία του lncRNA HOTAIR κατά την διάρκεια της διαφοροποίησης των hBMSCs διαπίστωσαν την συσχέτιση του HOTAIR με

το νόσημα της ΟΡ καθώς η έκφραση του βρέθηκε να είναι αυξημένη σε ασθενείς με ΟΡ καθώς μειώνει την δραστηριότητα της ALP αλλά και της δράσης των οστεοβλαστών. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η υπερέκφραση του συντελεί στην αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών μέσω της καταστολής της λειτουργίας της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνη.[48]

Η συμμετοχή των lncRNAs, AK039312 και AK079370 μελετήθηκε από τους Yin et al, το 2020[81] και διαπίστωσαν την συμμετοχή τους στη διαδικασία του σχηματισμού των οστών. Αναλυτικότερα, βρέθηκε να εμφανίζουν αυξημένη έκφραση και σε πειραματόζωα (ποντίκια) με ωοθηκεκτομή (OVX) μεγάλης ηλικίας αλλά παρατηρήθηκαν και τα ίδια επίπεδα έκφρασης σε ποντίκια διαφόρων ηλικιών επομένως εξήχθη το συμπέρασμα ότι εμπλέκονται στο σχηματισμό των οστών. Μελέτες που έγιναν στην συνέχεια βασισμένες σε αυτό το στοιχείο έδειξαν ότι αυτά τα lncRNAs είναι ικανά να αναστείλλουν δύο κύριους παράγοντες μεταγραφής της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης, τον TGF7 και τον LEF1, αποτρέποντας αντίστοιχα την διαδικασία της οστεογένεσης.[48]

Σε άλλη μελέτη οι Jiang et al, το 2019[82] μελέτησαν την έκφραση του lncRNA DANCR όπου βρέθηκε να υπερεκφράζεται στον ορό ασθενών με κατάγματα σε σχέση με δείγματα (ορός) που λήφθηκε από υγιή άτομα.[48]

Συνεχίζοντας θα πρέπει να αναφερθεί ότι έχει γίνει αποδειχθεί ότι το lncRNA AK045490 αναστέλλει την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, έτσι πάνω σε αυτήν την πληροφορία οι Li et al, το 2019[83] θέλησαν να μελετήσουν την πιθανή εμπλοκή του AK045490 στη διαφοροποίηση οστεοβλαστών. Βρέθηκε λοιπόν ότι τα επίπεδα έκφρασής του είναι σημαντικά υψηλότερα σε ποντίκια με OVX και σε ποντίκια μεγαλύτερης ηλικίας με ΟΡ σε σχέση με πειραματόζωα νεαρότερης ηλικίας. Το παραπάνω απέδειξε την εμπλοκή του στην μείωση της οστικής μάζας και την φθορά της οστικής δομής καθώς έχει αρνητικό ρυθμιστικό ρόλο στην διαφοροποίηση των οστεοβλαστών σε σχέση με την έκφραση της ALP και του σχηματισμού νέου οστού καθώς περιορίζει την λειτουργία της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνης καθώς εμποδίζει την έκφραση (μειωμένη έκφραση) των παραγόντων μεταγραφής TCF1, LEF1 και RUNX2.[48]

Τέλος, δύο πολύ σημαντικά lncRNAs το MEG3 και το H19 μελετήθηκαν από τους Li et al, το 2019[84] και τους Xiaoling et al, το 2020[85] αντίστοιχα. Από αυτές τις μελέτες βρέθηκε, στην πρώτη ότι το MEG3 έχει σημαντικό ρόλο τόσο στον πολλαπλασιασμό όσο και στην

διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε να έχει αυξημένα επίπεδα έκφρασης στον ορό ασθενών με κατάγματα σε σύγκριση με τα επίπεδα έκφρασης του στον ορό υγιών ατόμων. Εν συνεχεία αποδείχθηκε πως θα μπορούσε να είναι ένα lncRNA που θα μπορούσε να συμμετέχει και στην θεραπεία των ατόμων με κατάγματα καθώς όταν θεραπευτικά χορηγήθηκε σε κύτταρα, η λειτουργία της οδού σηματοδότησης Wnt/β κατενίνη αυξήθηκε. Η χρησιμότητα της έγκειται στην προαγωγή του σχηματισμού των οστών.[48,84]

Στην δεύτερη περίπτωση όμως βρέθηκε ότι το H19 έχει ενεργό ρόλο τόσο στον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών όσο και στην διαφοροποίηση των επαγόμενων hBMSCs από τις BMP-2 σε μια μελέτη που περιλάμβανε ένα δείγμα ατόμων με OP σε σχέση με ένα δείγμα υγιών ατόμων. Το H19 βρέθηκε να έχει μειωμένη έκφραση σε ασθενείς με OP και να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των hBMSC.[48,85]

3.3.3 lncRNAs που ρυθμίζουν την οστεοκλαστογένεση

3.3.3.1 lncRNAs ως θετικοί ρυθμιστές

Η επιγενετική ρύθμιση της βιολογίας και της λειτουργικότητας των οστεοκλαστών δεν έχει μελετηθεί τόσο όσο των οστεοβλαστών, παρότι λοιπόν έχουν γίνει πολύ λιγότερες μελέτες σε αριθμό έχουν ληφθεί σημαντικές πληροφορίες από τις υπάρχουσες καθώς διερευνώνται οι ρόλοι των lncRNAs κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της οστεοκλαστογένεσης.[48]

Τα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα (EPCs) έχει αποδειχθεί ότι ενισχύουν τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών των μακροφάγων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMMs) τόσο in vitro όσο και in vivo.[48]

Με βάση τη πιο πάνω απόδειξη οι Cui et al, το 2019[86] ήθελαν να μελετήσουν αν τα εξωσώματα που προέρχονται από EPC θα μπορούσαν να διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση μέσω του άξονα MALAT-1 / miR-124. Το lncRNA MALAT-1 παρατηρήθηκε να αυξάνει την έκφραση του, μειώνοντας την έκφραση του miR-124 εξαιτίας της απελευθέρωσης των εξωσωμάτων από τα EPC, προάγοντας έτσι τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Σε πρώτη φάση έδειξαν ότι το MALAT1 σε εξωσώματα που προέρχονται από EPC ρυθμίζει αρνητικά το miR-124, ενισχύοντας τα επίπεδα έκφρασης και ορισμένων γονιδίων που συμμετέχουν στην διαδικασία της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών και είναι τα:MMP9, CTSK, TRAP και CAR2. [48,86] Κατόπιν, σε δεύτερο χρόνο ανέφεραν πώς τα

εξωσώματα που προέρχονται από EPC θα μπορούσαν να προωθήσουν την αποκατάσταση των οστών καθώς παρατηρήθηκε σε πειραματόζωα (ποντίκια) στα οποία μεταμοσχεύθηκαν και εξωσώματα που προέρχονται από EPC αλλά και BMMs εμφάνισαν νεοαγγείωση στο σημείο του κατάγματος με αποτέλεσμα την μερική επούλωση του κατάγματος σε σύγκριση με εκείνα που υποβλήθηκαν σε αγωγή μόνο με BMMs. Αυτό δείχνει πως ίσως να συμβαίνει εξαιτίας της σπογγώδους λειτουργίας του MALAT1 έναντι του miR-124, μένει να γίνουν περαιτέρω μελέτες ώστε να εξαχθεί ένα ασφαλέστερο συμπέρασμα.[48,86]

Εν συνεχεία έπειτα από ευρήματα προηγούμενών μελετών ότι το lncRNA NEAT1 σε ασθενείς με OP βρέθηκε να εμφανίζει απορυθμισμένα επίπεδα έκφρασης με βάση αυτό το εύρημα οι Zhang et al το 2020[87] διερεύνησαν τις επιδράσεις του NEAT1 στην διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης και αναλύουν τους υποκείμενους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του στην OP. Η έκφραση του NEAT1 βρέθηκε να ρυθμίζεται προς τα πάνω, να έχει δηλαδή αυξημένη έκφραση, κατά τη διάρκεια της οστεοκλαστογένεσης που επάγεται από τον ενεργοποιητή υποδοχέα του παράγοντα NF-kB τον RANKL . Επίσης αρχικά σημειώθηκε αύξηση της έκφρασης διαφόρων γονιδίων όπως είναι τα: NFATc1, ιντεγκρίνη β3, TRAP5, DC-STAMP και καθεψίνη K αλλά μετά παρατηρήθηκε η μείωση της έκφρασης τους, ενώ βρέθηκε και η αλληλεπίδραση του NEAT1 με το miR-7. Επομένως η υπερέκφραση του NEAT1 προκαλεί την έναρξη της διαδικασίας της οστεοκλαστογένεσης αλλά επίσης προκαλεί και την απώλεια του οστικού ιστού, υποδηλώνοντας έτσι το δυναμικό του NEAT1 ως έναν νέο θεραπευτικό στόχο για ασθενείς με OP.[48,87]

Τέλος, δυο μελέτες η πρώτη των Ling et al, το 2019[88] και η δευτερή των Du et al, το 2020[89] διερεύνησαν οι μεν πρώτοι τα επίπεδα έκφρασης και τις επιδράσεις του lncRNA MIRG στον σχηματισμό οστεοκλαστών από κύτταρα BMMs τα οποία απομονώθηκαν από το μηριαίο οστό ποντικού και βρήκαν ότι το MIRG θα μπορούσε να διεγείρει την οστεοκλαστογένεση και την απορρόφηση των οστών ενεργώντας ως μοριακός σπόγγος έναντι του miR-1897, ενώ οι δε δεύτεροι είχαν ως σκοπό την αποσαφήνιση της επίδρασης του lncRNA TUG1 στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών και κατέληξαν στο ότι η υπερέκφραση του TUG1 αυξάνει την απορρόφηση των οστών προάγοντας την οστεοκλαστογένεση σε αρουραίους. [48,88,89]

3.3.3.2 lncRNAs ως αρνητικοί ρυθμιστές

Ο ρόλος του lncRNA BMNCR στην προαγωγή της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών συνεπώς και της προαγωγής της οστογένεσης έχει ήδη αποδειχθεί, επομένως, οι Chen et al, το 2019[90] θέλησαν να μελετήσουν τη συσχέτιση της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών που προκαλείται από το NF-kB (RANKL). Τα αποτελέσματα της έδειξαν ότι η έκφραση BMNCR μειώνεται με την πάροδο του χρόνου, φτάνοντας τα χαμηλότερα επίπεδα στις 72 ώρες κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης που προκαλείται από RANKL. Επίσης οι συγγραφείς ανέφεραν και χαμηλότερο επίπεδο έκφρασης του BMNCR στον ιστό του σπλήνα αλλά και του μυελού των οστών σε ποντικούς με OVX σε σύγκριση με το υγιές δείγμα.[48,90]

3.4 circRNAs

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990 οι Nigro et al[91] ανακάλυψαν τα CircRNAs. Τα circRNAs είναι μια κατηγορία των ενδογενων ncRNA που είναι ομοιοπολικές δομές κλειστού βρόχου που σχηματίζονται μέσω οπίσθιου ματίσματος, ενός τύπου εναλλακτικού ματίσματος και έχουν κυκλικό σχήμα και αρχικά είχαν θεωρηθεί ως υποπροϊόντα ανώμαλου ματίσματος. Προέρχονται από διάφορα τμήματα ενός γονιδίου, όπως εξόνια στην κωδικοποιητική περιοχή ενός γονιδίου, ιντρόνια αλλά και σε περιοχές μεταξύ δύο γονιδίων κ.α[92] Τα circRNAs σε αντίθεση με τα lncRNAs, συνδέουν με ομοιοπολικούς δεσμούς το 3' και 5' άκρο τους το οποίο υπάρχει πάντα σε ένα μόριο RNA σχηματίζοντας μονοκλωνικές δομές ενός συνεχούς βρόχου σαν δακτύλιο. Τα γονίδια που υπάρχουν σε αυτό βρίσκονται σε ολόκληρο το γονιδίωμα του χωρίς να διαφέρουν ως προς αυτό με τα lncRNAs. Το μεγεθός τους κυμαίνεται από από 100 nt έως πάνω από 4 kb. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των circRNAs είναι η αντοχή τους στην πέψη των εξωνουκλεασών και η εξαιρετική τους σταθερότητα καθώς λογω το ότι στερούνται εκτεθειμένα άκρα τα καθιστά μη επιρρεπή στην αποδόμηση τους από νουκλεάσες.[46] Είναι εξαιρετικά διατηρημένα μόρια που εκφράζονται αποκλειστικά στο κυτταρόπλασμα και έχουν πάρα πολλές λειτουργίες στην διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης. Λειτουργούν ως σφουγγάρι για ορισμένα miRNAs και ρυθμίζουν τη μεταγραφή καθώς και την κωδικοποίηση πρωτεϊνών και πεπτιδίων.

Ο ρόλος τους στα οστικά βλαστικά κύτταρα που συμμετέχουν στην ρυθμισή του μεταβολισμού των οστών δεν είναι ακόμα αποσαφηνισμένος και για το λόγο αυτό δεν έχούν αξιοποιηθεί ιδιαίτερα στην διάγνωση και την πρόληψη νοσημάτων (του μεταβολισμού των

οστών) όπως είναι η οστεοπόρωση αν και θα μπορούσαν μελλοντικά να λειτουργούν τόσο ως πιθανοί θεραπευτικοί βιοδείκτες όσο και για την πρόγνωση τους καθώς διαδραματίζουν ουσιαστικό ρυθμιστικό ρόλο για την εκδήλωση της νόσου μέσω των αλληλεπιδράσεων με miRNAs που σχετίζονται με την πρόκληση διαταραχής της ομοιόστασης των οστών. [92,93]

Πιο συγκεκριμένα τα circRNA προάγουν την οστεογένεση καθώς έχουν καθοριστικό ρόλο στην οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs συμμετέχοντας έτσι στην αποκατάσταση βλαβών των οστών αλλά και στην επούλωση καταγμάτων τους. Για παράδειγμα η μελέτη των Ouyang et al το 2019[94] απέδειξε ότι το hsa-circ 0074834 βρέθηκε να εμφανίζει μειωμένη έκφραση σε ασθενείς με κατάγματα των οστών και έθεσαν την υπόθεση πως σε περίπτωση ανοδικής ρύθμισης του hsa-circ 0074834 και ταυτόχρονη στόχευση του miR-942-5p ώστε να ελεγχθεί η έκφραση του E-Box που δεσμεύει το γονίδιο homeobox 1 (ZEB1) και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), θα επιτυγχάνονταν η αποκατάσταση καταγμάτων των οστών ή και η θεραπεία της OP.[92]

Το hsa-miR-6817-5p, που είναι ένας αρνητικός ρυθμιστής της οστεογένεσης ανακαλύφθηκε από τους Huang et al το 2019[95] ότι καταστέλεται η δράση του από τα circRNA RFWD2 και circINO80 με αποτέλεσμα την προώθηση της οστεογένεσης. Μια άλλη μελέτη των Wen et al το 2020[96] έδειξε ότι η αυξημένη έκφραση του circRNA 0076906 ρυθμίζει θετικά την οστεογένεση καθώς κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της οστεογονικής διαφοροποίησης των hMSCs, στοχεύει στο miR-1305 το οποίο με τη σειρά του στοχεύει στη ρύθμιση της δράσης της οστεογλυκίνης (OGN) και επομένως μέσω αυτής της οδού miR-1305/OGN επιτυγχάνεται η αποκατάσταση καταγμάτων των οστών.[92]

Ομοίως, σε μια άλλη μελέτη των Qiao et al το 2020[97] οι οποίοι μελέτησαν τα hBMSC που συλλέχθηκαν από ασθενείς με PMOP, έδειξαν πως το circRNA 0048211 εμφάνισε αυξημένη έκφραση με αποτέλεσμα την αυξηση της έκφρασης της δραστηριότητας των γονιδίων OCN, RUNX2, OPN και ALP. Ενώ με την στόχευση του miRNA-93-5p επιτεύχθηκε η αύξηση της έκφρασης της BMP2, ρυθμίζοντας θετικά την οσογένεση.[92]

Στην οστεοπόρωση, ορισμένα circRNAs επηρέασαν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών στοχεύοντας στον έλεγχο της δράσης διαφόρων miRNAs. Η περαιτέρω μελέτη αυτής της αλληλεπίδρασης θα διαλεύκανε την παθογένεια της οστεοπόρωσης αλλά και άλλων νοσημάτων και θα είναι επωφελής για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων και θεραπευτικών μοντελών.[93]

3.4.1 Τα circRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών

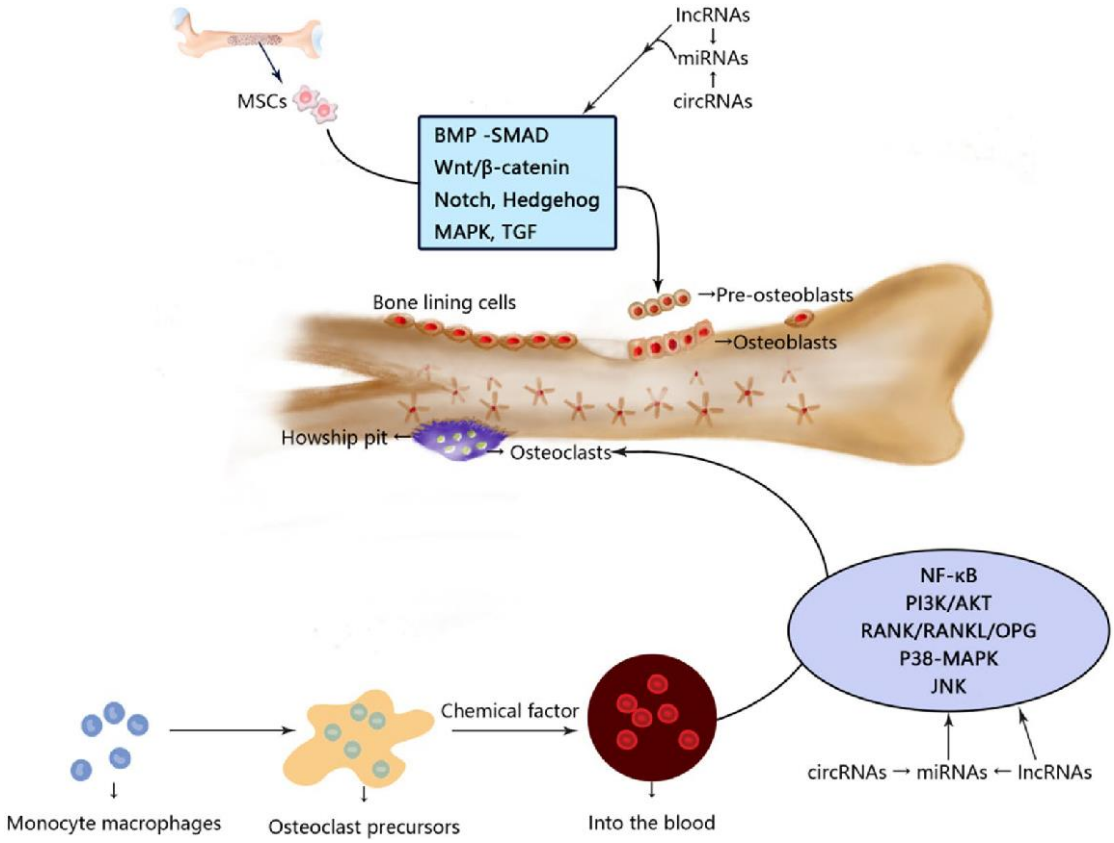
Σε μελέτη που έγινε από τους Chen et al το 2019[98] σε κύτταρα μυελού των οστών (BMM) επιβεβαιώθηκε η αυξημένη έκφραση του circRNA 28313. Επομένως, προσπάθησαν εργαστηριακά να καταστείλουν την έκφραση του για να διαπιστώσουν τις αλλαγές που θα προέκυπταν. Το αποτέλεσμα ήταν η καταστολή της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών. Εν συνεχεία στην προσπάθεια περαιτερώ μελέτης για την διερευνήση του ρόλου του circRNA 20313, αποδείχθηκε ότι τόσο το circRNA 28313 όσο και το CSF1 έδρασαν ως θέσεις δέσμευσης για το miR-195a και σχημάτισαν ένα δίκτυο circRNA-miRNA-mRNA. Τέλος, αποδείχθηκε ότι το circRNA 28313 λειτούργησε ως ceRNA στη στόχευση του miR-195a τόσο για την προώθηση του CSF1 όσο και για τη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών σε κύτταρα BMM.2

Οι circRNAs μπορούν να επηρεάσουν τη διαφοροποίηση της οστεοκλάστης δεσμεύοντας πολλαπλές miRNAs, π.χ. circRNA_007438 δεσμεύει miRNA-6338 και miRNA-7028-3p. Επιπλέον, circRNA_005108 αποδείχθηκε ότι συνδέεται με τα τέσσερα miRNAs, miRNA-6975-3p, miRNA-6516-5p, miRNA-486b-5p και miRNA-31-3p, τα οποία συνέβαλαν στην αναστολή της διαφοροποίησης της οστεοκλάστης. Έχει αποδειχθεί ότι οι circRNAs σχετίζονται στενά με την οστεοπόρωση μέσω των επιδράσεών τους ως σφουγγάρια miRNA, αλλά τα αποτελέσματα αυτά ήταν περιορισμένα. Περαιτέρω μελέτες μπορεί να διευκολύνουν την ανάπτυξη νέων θεραπειών για την οστεοπόρωση.[93]

3.4.2 Τα circRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών

Υπάρχουν έρευνες που μελετούν την εμπλοκή των circRNA στη ρύθμιση των οστεοβλαστών. Μια σημαντική μελέτη είναι αυτή των Wu et al το 2020[99] οι οποίοι στη μελέτη που έκαναν, περιέγραψαν ότι οι οστεοβλάστες MC3T3-E1 και MDPC23 εμφάνισαν αυξημένη έκφραση mmu-circRNA 003795 και OPN. Στην συνέχεια παρατηρήθηκε ότι όταν η έκφραση του

mmu-circ003795 αναστάλθηκε, τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων COL15A1 και του OPN μειώθηκαν αλλά τα επίπεδα έκφρασης του miR-1249-5p ήταν αυξημένα. Επομένως, αποδεικνύεται ότι μέσω του miR-1249-5p, το mmu-circRNA 003795 θα μπορούσε να στοχεύσει το COL15A1 για να ρυθμίσει τη διαφοροποίηση και την ανοργανοποίηση των οστεοβλαστών.[92]



Εικόνα 8. Το miRNA, το lncRNA και το circRNA επηρεάζουν τους οστεοβλάστες και τους οστεοκλάστες και συμμετέχουν στην εμφάνιση της οστεοπόρωσης [93].

4. Ο ρόλος των ncRNAs στις παθήσεις των οστών

Τα νοσήματα που σχετίζονται με τα οστά προκύπτουν από ένα σύμπλεγμα διαφόρων καταστάσεων που θα αναλυθούν ώστε να γίνει κατανοητός ο μηχανισμός που οδηγεί σε αυτές.

Η ομοιόσταση των οστών διατηρείται κυρίως με διάφορους μηχανισμούς που προσπαθούν να συγχρονίσουν την ενεργοποίηση των οστεοβλαστών με την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, καταφέρνοντας έτσι να επιτύχουν την ισσοροπία μεταξύ του σχηματισμού των οστών και της οστικής απορρόφησης. Οι οστεοβλάστες που είναι τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τον σχηματισμό οστών θεωρήτε ότι προέρχονται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, BMSCs, ενώ οι οστεοκλάστες προέρχονται από μονοπύρηνα αιμοποιητικά μυελοειδή κύτταρα που επηρεάζουν με τη σειρά τους την οστική απορρόφηση.Οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες, τα BMSCs, τα λιποκύτταρα και τα χονδροκύτταρα είναι οι κυριότερες κατηγορίες κυττάρων που συμμετέχουν στην διατήρηση της ομοιόστασση των οστών. Τα BMSCs που έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ του σχηματισμού οστών και της απορρόφησης φαίνεται εξαιτίας του τρόπου ρυθμισής τους και έκφρασης τους, αποτελούν τη βασική αιτία της OP. Βρέθηκε δηλαδή, ότι τα BMSCs μπορούν κανονικά να διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα και λιποκύτταρα σε νεαρότερες ηλικίες αλλά σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας η διαφοροποίηση των BMSCs σε οστεοβλάστες μειώνεται. Αυτή η μείωση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του σχηματισμού των οστών, επομένως οδηγεί σε οστεοπόρωση.[100]

Στον γενικό πληθυσμό απαντώνται συνήθως νοσήματα των οστών όπως η οστεοπόρωση (Osteoporosis, OP) που κατατάσσεται ως το πρώτο νόσημα που αφορά τα οστά καθώς προσβάλλει περισσότερους από 200 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως ανά έτος.[89] Είναι λοιπόν, μια συστηματική σκελετική διαταραχή που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της οστικής πυκνότητας (BMD). Η απώλεια αυτή οφείλεται στην αυξημένη δραστηριότητα των οστεοκλαστών με ταυτόχρονη μείωση σχηματισμού οστού από τους οστεοβλάστες, με αποτέλεσμα τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καταγμάτων, ιδιαίτερα της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και του ισχίου, επηρεάζοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ανθρώπων που πάσχουν από αυτή.[92-104] Η οστεοαρθρίτιδα (Osteoarthritis, OA) είναι μια χρόνια ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία και πόνο των αρθρώσεων που μπορεί να οδηγήσει έως και στην αναπηρία, προσβάλοντας το ισχίο και τα γόνατα,[101,105] Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Rheumatoid Arthritis, RA) η οποία είναι μια χρόνια αυτοάνοση ασθένεια που προκαλεί παραμόρφωση των αρθρώσεων και απώλεια λειτουργικότητας των άκρων καθώς προσβάλει κυρίως τις μικρές αρθρώσεις των χεριών και τον ποδιών. Παγκοσμίως το 1% του πληθυσμού επηρεάζεται, με υψηλότερο επιπολασμό σε άτομα

ευρωπαϊκής ή ασιατικής καταγωγής.[101,106,107] Η οστεονέκρωση της κεφαλής του μηριαίου οστού (Osteonecrosis of the Femoral Head, ONFH) χαρακτηρίζεται ως μια ορθοπεδική κατάσταση που τις περισσότερες φορές ειδικότερα στα τελευταία στάδια της ασθένειας απαιτεί την ολική αρθροπλαστική του ισχίου.[107]

Από την άλλη μεριά, απαντώνται και οι πρωτοπαθείς κακοήθεις όγκοι των οστών με πιο συχνό είδος τέτοιου τύπου καρκίνου να είναι το οστεοσάρκωμα (Osteosarcoma, OS) το οποίο εμφανίζει υψηλή νοσηρότητα σε βρέφη και εφήβους και χαρακτηρίζεται από επιθετική συμπεριφορά, καθώς προκαλεί μεταστατικό καρκίνο στους πνεύμονες.[102,108-111] Εν συνεχεία, το πολλαπλό μυέλωμα (Multiple Myeloma, MM) χαρακτηρίζεται από τον μη ελεγχόμενο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της λευκής σειράς. Είναι η δεύτερη πιο συχνή αιματολογική κακοήθεια κυττάρων που βρίσκονται στο πλάσμα και παράγουν μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη. Αυτά τα κακοήθη κύτταρα αντικαθιστούν τη φυσιολογική αιμοποίηση του οργανισμού του ατόμου που προσβάλουν καθώς επεκτείνονται στον μυελό των οστών. Τα συμπτώματα αυτής της νόσου είναι η υπερασβεστιαιμία, η αναιμία, η νεφρική ανεπάρκεια, και η οστεολυτική οστική νόσος. Η οστεόλυση χαρακτηρίζεται από καταστροφή του φυσιολογικού οστού η οποία προκαλείται από τις οστεοκλάστες και όχι από την επίδραση των καρκινικών κυττάρων. Στις περιπτώσεις αυτές η επιβίωση του ασθενή μπορεί να διαρκέσει από ένα μήνα έως σχεδόν δέκα έτη.[101,112,113]

Σε άλλες περιπτώσεις κακοηθειών που οι πρωτοπαθείς όγκοι δεν αφορούν τα οστά μπορεί να οδηγήσουν σε μεταστάσεις στα οστά ως αποτέλεσμα δευτεροπαθούς κακοήθειας. Η μετάσταση είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει την απώλεια της κυτταρικής συνοχής, την αγγειογένεση, την πρόσβαση και επιβίωση των κυττάρων στην αιμοποιητική κυκλοφορία καθώς και την αποφυγή των τοπικών ανοσολογικών αποκρίσεων του οργανισμού με αποτέλεσμα να ευνοείται η ανάπτυξη καρκίνου σε απομακρυσμένα όργανα καθώς και στα οστά διότι τα καρκινικά κύτταρα αποσπώνται από τον πρωτοπαθή όγκο.[114,115]

Ο καρκίνος του προστάτη και του μαστού είναι υπεύθυνοι για την πλειονότητα των οστικών μεταστάσεων με τον καρκίνο του πνεύμονα και των νεφρών να έπονται. Τα συμπτώματα της ασθένειας χαρακτηρίζονται από έντονο πόνο, υπερασβεστιαιμία, παθολογικά κατάγματα, μειωμένη κινητικότητα αλλά κυρίως από συμπίεση του νωτιαίου μυελού των οστών. [114,115]

Το μοντέλο θεραπειών που συνίστανται για τα νοσήματα των οστών σε αρκετά μεγάλο βαθμό φέρουν τον κίνδυνο ανεπιθύμητων παρενεργειών στον οργανισμό του ατόμου που λαμβάνει την θεραπεία εξαιτίας των μηχανισμών δράσης τους.

Σε ασθενείς με οστεοπόρωση η ενδεδειγμένη θεραπεία συνίστανται σε χορήγηση συμπληρωμάτων ασβεστίου, φωσφόρου και φθορίου. Επίσης συμπεριλαμβάνει θεραπεία αποκατάστασης ορμονών (οιστρογόνα σε συνδυασμό με προγεστερόνη), χορήγηση αναβολικών παραγόντων και εφαρμογή ανοσοθεραπείας. Τα φάρμακα αυτά ενώ αναστέλλουν αποτελεσματικά τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών, έχουν όμως και μειονεκτήματα καθώς ταυτόχρονα καταστέλλουν την ανακατασκευή των οστών.[116-118]

Για την αντιμετώπιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοαρθρίτιδας χορηγούνται απλά αναλγητικά, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αντιρευματικά φάρμακα και κορτικοστεροειδή. Ενώ στην οστεονέκρωση της μηριαίας κεφαλής αρχικά δύναται να χορηγηθεί φαρμακευτική αγωγή περισσότερο όμως για την αντιμετώπιση του πόνου (παυσίπονα, ενέσιμα) και όχι ως μέσω θεραπείας, καθώς η νόσος εξελίσσεται σχετικά γρήγορα και ο ασθενής οδηγείτε στο χειρουργείο για ολική αρθροπλαστική του ισχίου.[116]

Για το νόσημα του πολλαπλού μυελώματος η θεραπεία διακρίνεται σε θεραπεία συντήρησης της ασθένειας, σε θεραπεία υποτροπής της νόσου, αλλά και σε μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων (αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, ASCT) όταν αυτό είναι εφικτό.[119]

Τέλος, στην περίπτωση των οστικών μεταστάσεων γίνεται χρήση διφωσφωνικών φαρμάκων με σκοπό την επίτευξη της επιβράδυνσης της ταχείας ανάπτυξής της ασθένειας, την μείωση της φθοράς του οστού ή την απώλεια της οστικής μάζας, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο κατάγματος. Η θεραπεία στοχεύει στην ανακούφιση του πόνου και την βελτίωση της ποιότητας της ζωής του ασθενή, με στόχο, αν βέβαια αυτό είναι δυνατό, την επιμήκυνση του προσδόκιμου ζωής καθώς η ασθένεια αυτή δεν θεραπεύεται.[114,115]

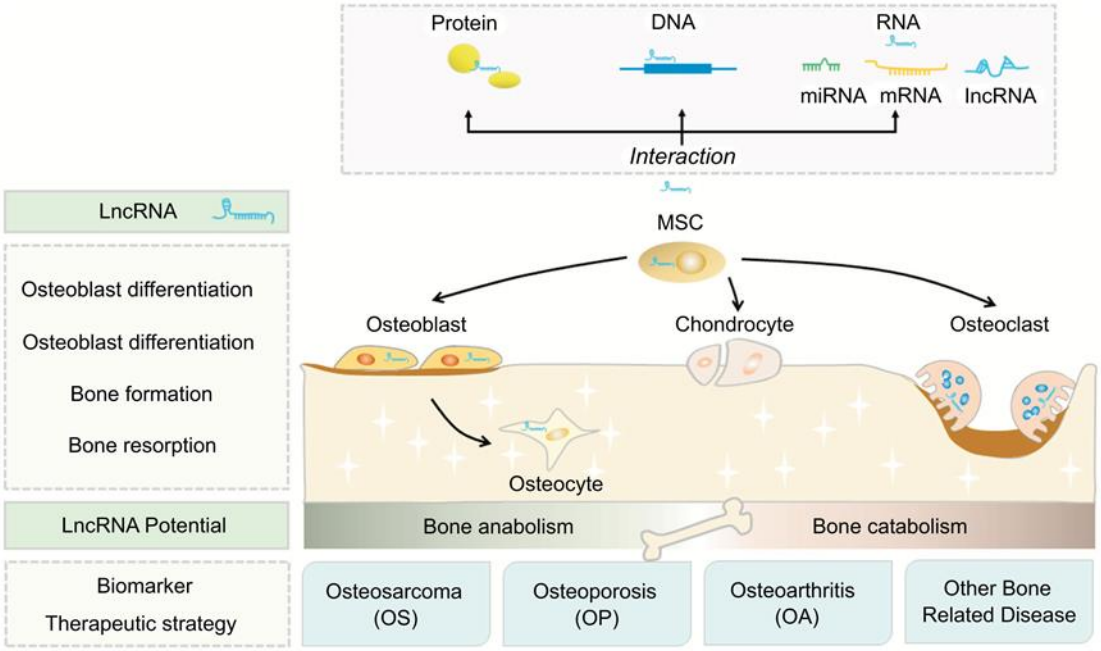
Με αφορμή την σοβαρότητα των παρενεργειών που προκαλούν τα έως τώρα θεραπευτικά μοντέλα που εφαρμόζονται για την αντιμετώπιση είτε των συμπτωμάτων, είτε της βελτίωσης της ποιότητας ζωής του ασθενή είτε την παρεμπόδιση της εξέλιξης ή και την αποκατάσταση των παραπάνω νοσημάτων, όπου αυτό είναι εφικτό, που αφορούν τα οστά μελετάται συνεχώς η αίτια που προκαλεί την εμφάνιση-ανάπτυξη τους ώστε να βρεθούν νέες μορφές θεραπείας-φάρμακα που και γιατί όχι να έχουν και καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα που να

επιτυγχάνουν έως και την ίαση (όπου είναι δυνατό). Τα lncRNAs, που λειτουργούν και ως προγνωστικοί βιοδείκτες φαίνεται να είναι ένα πολύ χρήσιμο διαγνωστικό και θεραπευτικό εργαλείο σε νοσήματα που αφορούν τα οστά.[102] Μέσω ερευνών έχει αποδειχθεί ότι έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της οστεογένεσης και της οστεοκλαστογένεσης και ως εκ τούτου αναγνωρίζονται ως πιθανά εργαλεία για τη θεραπεία νοσημάτων των οστών. Οι θεραπείες αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν και την ρύθμιση των επιπέδων έκφρασης των lncRNA, είτε αυτή είναι αυξήμενη είτε είναι μειωμένη, ώστε να προλαμβάνεται η εκδήλωση νοσήματος.[101,116]

4.1 miRNAs και lncRNAs στις παθήσεις των νοσημάτων των οστών

Ο ρόλος των miRNAs στην εμφάνιση του νοσήματος της ΟΡ φαίνεται από μια σειρά μελετών παραδείγματός χάρη, σε μελέτη που έγινε από τους Hackl M et al, το 2016[120] βρέθηκε ότι τα επίπεδα εννέα miRNA στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα και θα μπορούσαν να επηρεάσουν την διαδικασία της οστεογονικής διαφοροποίησης. Αυτά τα miRNA είναι το miR-93, το miR-24, το miR-23a, το miR-124a, το miR-122a, το miR-21, το miR-125b, το miR-100 και το miR-148a.8,[120] Επίσης σε μελέτη των Li H et al, το 2014[121] βρέθηκε ότι σε γυναίκες που βρίσκονταν σε μεταεμμηνοπαυσιακή (post menopausal osteoporosis) φάση και εμφάνιζαν οστεοπόρωση ή οστεοπενία ανιχνεύθηκαν τρία miRNA, το miR-133a, το miR-21 και το miR-146 με το miR-21 να εμφανίζει μειωμένη έκφραση ενώ το miR-133a εμφάνισε αυξημένη έκφραση με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η εμπλοκή τους στην πρόκληση της οστεοπόρωσης ή της οστεοπενίας.[30,121] Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τη σχέση των κυκλοφορούντων και εκφρασμένων σε ιστούς miRNA με την οστεοπόρωση και τα κατάγματα ευθραυστότητας στον άνθρωπο.[4] Επίσης έχει βρεθεί ότι το miR-223 συμβάλλει τόσο στην προαγωγή όσο και στην αναστολή της οστεοκλαστογένεσης καθώς τα miRNA δύναται να έχουν και θετική αλλά και αρνητική ρύθμιση ανάλογα με τις οδούς που εμπλέκονται την εκάστοτε φορά.[53] Βέβαια υπάρχει και η άποψη ότι το miRNA εντοπίζονται σε διαφορετικά κλινικά δείγματα όπως όρο, πλάσμα, ιστό. Για παράδειγμα, οι Mandourah A et al, το 2018[122] διαπίστωσαν ότι, ενώ τα miR-122-5p και miR-4516 ήταν κατάλληλοι βιοδείκτες για την οστεοπόρωση, το miR-122-5p ήταν ανιχνεύσιμο στον ορό, ενώ το miR-4516 βρέθηκε στο πλάσμα.[53]

Όπως ήδη έχει αναφερθεί παραπάνω, τα lncRNAs που είναι μια από τις κατηγορίες των ncRNAs σχετίζονται άμεσα με την εκδήλωση νοσημάτων που αφορούν τα οστά καθώς και κακοηθειών τους. Η απορρύθμιση του επιπέδου της έκφρασης τους έχει αποδειχτεί ότι είναι ο κύριος λόγος ανάπτυξης νοσημάτων. Πιο συγκεκριμένα, η αλλαγή των επιπέδων έκφρασης των lncRNAs μπορεί να επηρεάσει τόσο την οστεοβλαστογένεση όσο και την οστεοκλαστογένεση διαταράσσοντας την φυσιολογική τους λειτουργία και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανισορροπία μεταξύ αυτών των δύο διαδικασιών και συνεπώς την εκδήλωση νοσημάτων ή και κακοηθειων. Η κατανόηση του ρόλου των lncRNAs θα μπορούσε να ανοίξει το δρόμο για την ανάπτυξη νέων στρατηγικών που βασίζονται στο lncRNA για τη βελτίωση της διάγνωσης και της πρόγνωσης, καθώς και για τη εύρεσή νέων θεραπειών για τις ασθένειες που σχετίζονται με την ανακατασκευή των οστών όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα.[48,123]



Εικόνα 9. Απεικόνιση της διαδικασίας της ανακατασκευής των οστών. [123]

Τα μακρά μη κωδικά RNA είναι κρίσιμοι μεσολαβητές στη διαδικασία της ανακατασκευής των οστών, η οποία διαταράσσεται στην οστεοπόρωση, στο οστεοσάρκωμα, στην οστεοαρθρίτιδα και σε άλλα νοσήματα των οστών.

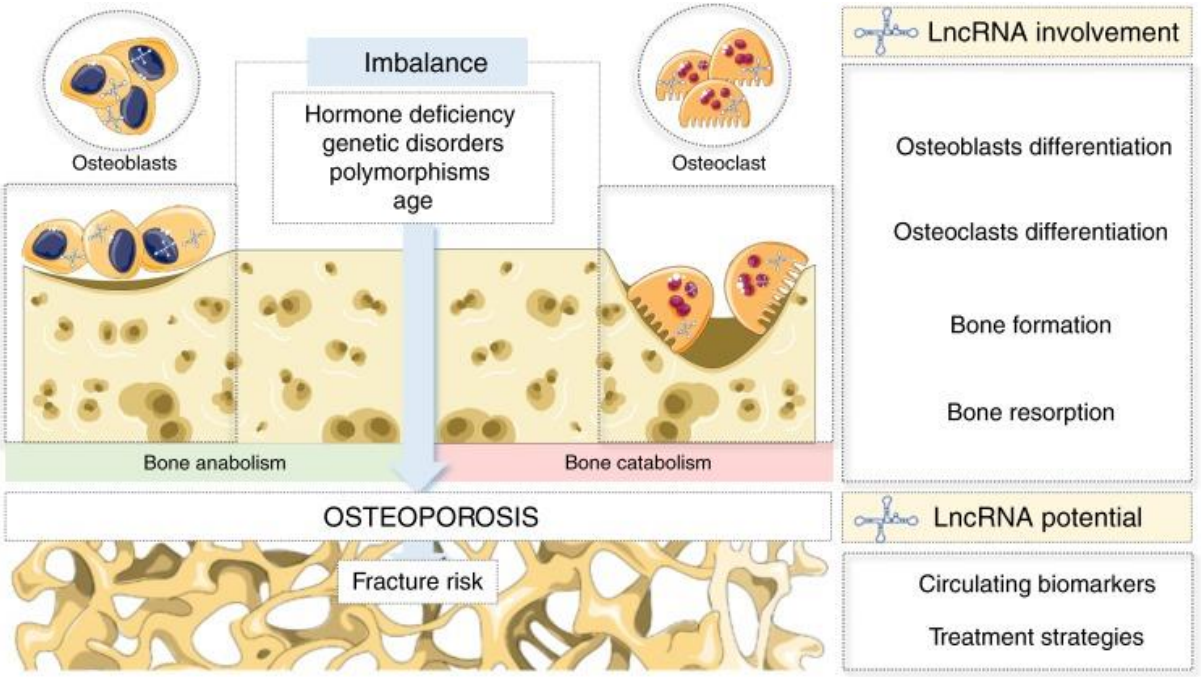
Εν συνεχεία ενδεικτικά πιο κάτω παραθέτονται ορισμένα από τα σημαντικότερα lncRNAs που σχετίζονται με την εμφάνιση και την εκδήλωση της ΟΡ αλλά και την χρησιμότητα τους ως βιοδείκτες του νοσήματος αυτού.

Με αφορμή τη μελέτη των Tong X et al, το 2015[124] υπάρχουν ενδείξεις ότι το lncRNA-ANCR (αντι-διαφοροποίηση RNA που δεν κωδικοποιεί), επίσης γνωστό ως DANCR (διαφοροποίηση που ανταγωνίζεται μη πρωτεϊνικό κωδικό RNA), προάγει την ΟΡ. Καθώς σε μελέτη παρατηρήθηκε ότι τα κύτταρα οστεοβλαστών εμφάνισαν μειωμένη απόπτωση και αυξημένο πολλαπλασιασμό και επίσης ενισχύθηκε η έκφραση έκφραση IL6 και TNF-α. Καθώς οι IL6 και TNF-α είναι γνωστοί φλεγμονώδεις δείκτες που εμπλέκονται στην οστεοκλαστογένεση μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι το DANCR θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως ένας πιθανός προγνωστικός ή θεραπευτικός βιοδείκτης για το νόσημα της ΟΡ.[53,124]

Βάσει της μελέτης των Chen R et al, το 2019[89] βρέθηκε ότι το lncRNA BMNCR (μη κωδικό RNA που σχετίζεται με τον μυελό των οστών) συντελεί στην αναστολή της εξέλιξης της ΟΡ, καθώς η έκφραση του μειώθηκε τόσο στον μυελό των οστών όσο και στον σπλήνα των ποντικών (πειραματόζωων) με ΟΡ.[53,124]

Εν συνεχεία σε μια σημαντική μελέτη των Feng G et al, το 2019[125] βρέθηκε ότι lncRNA GAS5 (ειδικό για διακοπή ανάπτυξης 5) θα μπορούσε να ρυθμίσει την έκφραση του RUNX2 μέσω του mRNA-498, το οποίο ρυθμίζει αρνητικά την οστεογονική διαφοροποίηση. Έτσι, η υπερέκφραση του GAS5 θα μπορούσε να σταματήσει την εξέλιξη της οστεοπόρωσης.[53,125]

Το lncRNA MALAT1 (μεταγραφικό 1 αδενοκαρκινώματος πνευμόνων) που σχετίζεται με τη μετάσταση, επίσης γνωστό και ως NEAT2 (πυρηνικό εμπλουτισμένο αντίγραφο 2), εμπλέκεται στο νόσημα της ΟΡ, καθώς ανέστειλε την οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs και επομένως και προωθεί την εμφάνιση της. Επίσης, χρησιμεύει και ως προγνωστικός βιοδείκτης για μεταστάσεις καρκίνου στον πνεύμονα και πιθανόν και των οστών. Το lncRNA MALAT1.[53,126]



Εικόνα 10. Τα lncRNA είναι κρίσιμοι μεσολαβητές της διαδικασίας ανακατασκευής των οστών, η οποία διαταράσσεται στο νόσημα της οστεοπόρωσης [60]

Σε πρόσφατες μελέτες των Wang Q et al, το 2017[127] και των Sun H et al, το 2020[128] έδειξαν ότι το lncRNA MEG3 (μητρικά εκφραζόμενο 3) βρέθηκε να προάγει την OP καθώς η έκφραση των miR-133a-3p και MEG3 βρέθηκε να είναι σημαντικά υψηλότερη στον ιστό των οστών σε σύγκριση με τους μάρτυρες διότι η αυξημένη έκφραση του MEG3 οδήγησε στην αύξηση της έκφρασης και του miR-133a-3p στα BMSCs, μειώνοντας την οστεογονική διαφοροποίηση.[53,127,128] Επίσης**,** έχει βρεθεί ότι το lncRNA MEG3 παίζει κρίσιμο ρόλο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση και συνεπώς στη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος αλλά επιβάλλεται να γίνουν περαιτέρω μελέτες για να αποδειχθούν ή να καταρριφθούν αυτές οι υποθέσεις**.**[53]

Και τέλος, το lncRNA XIXT (X-αδρανές ειδικό αντίγραφο) διαπιστώθηκε ότι προάγει την οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs και στοχεύει το miRNA-30a-5p με απώτερο σκοπό να διακοπεί η εξέλιξη της OP. Το miRNA-30a-5p με την σειρά του ενισχύει την έκφραση του RUNX2 και αντίστροφα, υποδηλώνοντας έτσι ότι το RUNX2 είναι ο στόχος του miRNA-30a-5p. Επομένως, το XIXT θα μπορούσε να είναι ένας πιθανός νέος θεραπευτικός στόχος για ασθενείς με μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση.[53]

5. Θεραπεία

Οι αναδυόμενοι δεσμοί μεταξύ μη κωδικών ncRNA και νοσημάτων έχουν ανοίξει ένα νέο πεδίο θεραπευτικών και διαγνωστικών ευκαιριών. Πολλά miRNA έχουν ήδη αποδειχθεί με επιτυχία ως βιοδείκτες ή θεραπευτικοί στόχοι για πολλά και διαφορετικά νοσήματα. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι το ίδιο ισχύει και για τα lncRNAs και τα circRNAs.[47]

Τα lncRNAs έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται τόσο στην εκδήλωση όσο και στην ανάπτυξη νοσημάτων των οστών. Η συμμετοχή τους στους κυτταρικούς αλλά και στους μοριακούς μηχανισμούς του μεταβολισμού των οστών τα θέτει ως μόρια άμεσα εμπλεκόμενα στην εμφάνιση νοσημάτων αλλά και ως θεραπευτικούς βιοδείκτες για τον περιορισμό ή και την ίαση τους. Η γνώση των αιτιών που διαταράσσουν την ομοιόσταση και το φυσιολογικό μεταβολισμό των οστών αλλά και του μοριακού μηχανισμού που προκαλεί την εκδήλωση του εκάστοτε νοσήματος θα βοηθήσει στην εύρεση νέων αποτελεσματικότερων θεραπειών από τις υπάρχουσες αλλά και νέων τρόπων πρόληψης τους.[60] Η χρησιμότητα εύρεσης νέων θεραπευτικών μοντέλων έγγυται στο γεγονώς ότι οι διαθέσιμες θεραπευτικές παρεμβάσεις είναι αποτελεσματικές στο να μειώσουν σημαντικά την οστική απορρόφηση ή να ενισχύσουν τον σχηματισμό οστών, αλλά εμφανίζουν και ένα σημαντικό μειονέκτημα καθώς η παρατεταμένη χρήση τους έχει επιβλαβείς παρενέργειες για τον οργανισμό.[92]

Σύμφωνα με τα επίσημα μητρώα κλινικών δοκιμών, καταγράφονται μόνο 25 κλινικές δοκιμές που αξιολογούν το ρόλο των lncRNAs στην εκδήλωση της νόσου.[60] Οι περισσότερες έρευνες έχουν μελετήσει την χρησιμότητα των lncRNAs ως βιοδεικτών για διάγνωση και πρόγνωση, και όχι ως θεραπευτικά μόρια και μάλιστα αφορούν επι των πλείστων ομάδες ασθενών με καρκίνο ή καρδιολογικά προβλήματα και όχι ασθενείς με μυοσκελετικές διαταραχές.[60]

Σε έρευνα των Li et al, το 2020[129] ανακαλύφθηκε αρχικά ότι το lncRNA GAS5 παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην αρνητική ρύθμιση της διαφοροποίησης λιποβλαστών/λιποκυττάρων στους ανθρώπους και επιβεβαίωσαν ότι το η έκφραση του GAS5 βρέθηκε να είναι μειωμένη στα οστά και στα BMSCs ασθενών με OP. Το συμπέρασμα στο οποίο οδήγησε αυτή η έρευνα επιβεβαίωσε ότι το GAS5 προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών σε BMSCs ρυθμίζοντας την οδό UPF1/SMAD7 δρώντας προστατευτικά για την οστεοπόρωση. Ομοίως, οι Zheng et al, το 2020[130] μελετώντας το lncRNA SNHG5

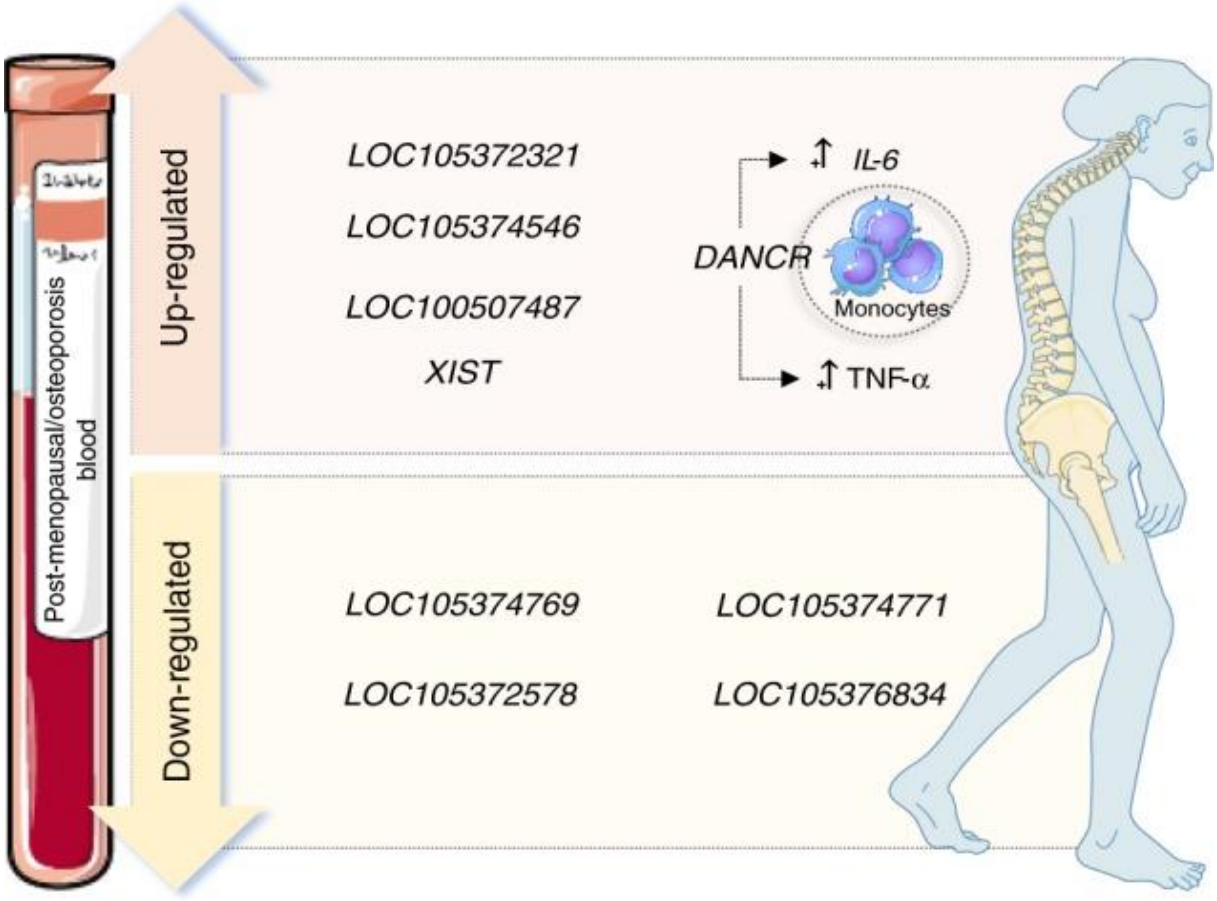
βρήκαν ότι προωθήθηκε η οστεογονική διαφοροποίηση σε BMSC δρώντας ως ceRNA και στοχεύοντας το miR-582-5p για τη επίτευξη της ρύθμισης της έκφρασης του RUNX3, υποδεικνύοντας έτσι ότι, το lncRNA SNHG5 μπορεί να είναι νέος υποσχόμενος στόχος για τη θεραπεία της OP.[100]

Η διαδικασία που επιτελείται για την ανακατασκεύη των οστών καθώς και η αποκατάσταση τραυματισμών ή και καταγμάτων τους είναι το κυριότερο μέλημα της ιατρικής επιστήμης και πιο συγκεκριμένα της ορθοπεδικής ιατρικής.[6] Η ικανότητα ελέγχου της διαδικασίας της αυτοανανέωσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των σκελετικών βλαστικών κυττάρων είναι ένας σημαντικός δρόμος για την επίτευξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.[6]

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs) είναι ένα νέο εργαλείο για τους ασθενείς μεταβολικών νοσημάτων των οστών καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κυτταρική θεραπεία ορισμένων από αυτών. Πιο συγκεκριμένα για τα MSCs του μυελού των οστών (BMSCs) είναι μεγίστης σημασίας να μελετηθεί ο μοριακός μηχανισμός που εμπλέκεται στη ρύθμιση τους καθώς επιτελούν έναν αρκετά σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό των οστών και αυτή η χαρακτηριστική ικανότητα τους, τα καθιστά μοναδικά και πιθανώς είναι εμπλεκόμενα σε ασθένειες που σχετίζονται με την αύξηση της ηλικίας.[92]

Για παράδειγμα, σε μελέτη που έγινε από τους Feng et al, το 2018[131] βρέθηκε ότι ένα αντιπληροφοριακό lncRNA που εμπλέκεται στον μεταβολισμό των οστών και είναι το lncRNA (BDNF-AS), που είναι ένας αντιπληροφοριακός νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο, κατά τη διάρκεια της οστεογονικής διαφοροποίησης των BMSC, η έκφραση του βρέθηκε να είναι αυξημένη. Η αύξηση της έκφρασης του είναι αυτή που ώθησε τα BMSC να πολλαπλασιαστούν, αλλά όχι και να προωθήσουν την οστεογονική διαφοροποίηση καθώς μείωθηκαν τα επίπεδα της οστεοποντίνης (OPN) και του μεταγραφικού παράγοντα Runx2, μειώνοντας έτσι την οστεογονική διαφοροποίηση. Μια άλλη σημαντική μελέτη των Chen et al, το 2019[79] περιγραφεί ότι η υψηλή έκφραση του lncRNA XIST στα περιφερικά μονοκύτταρα του αίματος στους ασθενείς με OP σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα είχε αρνητική επίδραση στην έκφραση της ALP και του Runx2 αλλά και στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών σε BMSC.[92] Τα ευρήματα αυτά ανοίγουν τον δρόμο για την στοχευμένη εύρεση νέων θεραπειών με την χρήση των lncRNAs.[92]

Σε μια άλλη μελέτη των Fei et al, το 2020[132] που έγινε σε δείγματα αίματος τριών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών που διαγνώστηκαν με οστεοπόρωση σε σχέση με δείγματα από δύο υγιών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με βρέθηκε ότι τα lncRNAs LOC105372321, LOC105374546 και LOC100507487 είχαν αυξημένη έκφραση, ενώ τα lncRNAs LOC105374769, LOC105372578 και LOC105374771 δεν είχαν κάποια ιδιαίτερη μεταβολή στην έκφραση τους. Εν συνεχεία μελετήθηκε η έκφραση των mRNA στόχων των lncRNA και βρέθηκε ότι εμφάνισαν διαφορά στην έκφραση τους μεταξύ των δύο ομάδων. Η έκφραση αρκετών mRNAs συσχετίστηκε σε μεγάλο βαθμό με την έκφραση του incRNA. Επιπλέον, ορισμένα από αυτά τα mRNAs εντοπίστηκαν σε απόσταση 100 kb από το lncRNAs, συμπεριλαμβανομένου αυτού της ALP, που βρισκόταν σχετικά κοντά στο LOC105376834, όπου και στις δύο ομάδες ελέγχου βρέθηκε να υποεκφράζεται. Το συμπέρασμα που εξάγεται βάση αυτών των ευρημάτων υποδηλώνει μια cis-ρύθμιση της έκφρασης των mRNAs που σχετίζονται με το μεταβολισμό των οστών και των lncRNAs. Ωστόσο, επειδή το δείγμα ήταν πολύ μικρό ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα ανοίγει ο δρόμος για νέες μελέτες σε lncRNAs που λήφθηκάν από δείγμα αίματος για την χρησιμότητα τους ως βιοδείκτες για τη διάγνωση της ΟΡ και την παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου υπό διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα.[60]



Εικόνα 11. Διαφορετικά εκφραζόμενα lncRNAs σε δείγματα αίματος είναι δυνητικοί βιοδείκτες για την οστεοπόρωση[60].

Επιπρόσθετα, τα lncRNAs εμπλέκονται όμως και στη ρύθμιση των BMSCs και μέσω των miRNAs όπως βρέθηκε από την μελέτη των Zhang et al, το 2019[133] κατά τη διάρκεια της οστεογονικής διαφοροποίησης των BMSC, το lncRNA MSC αντιπληροφοριακό RNA 1 (MSC-AS1) και το BMP2 παρουσίασαν αυξημένη έκφραση. Το σημείο σύνδεσης του miR-140-5p με τα γονίδια MSC-AS1 και BMP2 είναι το 3'UTR τους, επομένως μια πιθανή αναστολή του MSC-AS1 θα μπορούσε να μειώσει την έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την οστεογένεση αλλά και του miR-140-5p, του οποίου η αναστολή θα επιφέρει τη μείωση της έκφρασης του BMP2. Έτσι, αν το miR-140-5p δεν θα μπορεί να συνδεθεί με το BMP2 και το MSC-AS1 επομένως θα προηγαγέ την οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs, θα προέκυπταν θετικά απότελέσματα για τον περιορισμό του νοσήματος της οστεοπόρωσης.[92]

Ο ρόλος της σωστής αγγειοποίησης των οστών, θα πρέπει να τονισθεί ότι δεν είναι απαραίτητη μόνο για το σχηματισμό ή την ανακατασκεύη των οστών άλλα αποτελεί έναν

πολύ βασικό παράγοντα και για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μηχανισμών μέσω της επιτυχημένης αναγέννησης των οστών, πιο συγκεκριμένα η γνώση των μοριακών μηχανισμών που αποτελούν την βάση την σωστής λειτουργίας των αιμοφόρων αγγείων των οστών μπορεί να οδηγήσει στην βελτίωση ή και ίαση νοσημάτων που σχετίζονται με την μη σωστή αγγείωση τους. Αυτό συνεπάγεται με αρνητική ρύθμιση του μεταβολισμού των οστών με αποτέλεσμα την εκδήλωση νοσήματος.[12]

Συνεπώς, η αγγειογένεση εκτός από ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για το σχηματισμό των οστών, συμβάλλει και στην αναγέννηση αλλά και στην αποκατάσταση βλαβών των οστών. Αυτή η γνώση οδήγη σε ορισμένους ερευνητές να χρησιμοποιήσουν τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), τον αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (FGF) και τις μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMPs) κ.α σε ικριώματα με σκοπό να αποδείξουν την βελτίωση που μπορούσε να επέλθει στη διαδικασία της προσπάθειας της επούλωσης τραυμάτων-βλαβών των οστών. Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι το μικροπεριβάλλον του κατεστραμμένου ιστού αλλάζει λόγω της αγγειογένεσης, η οποία στη συνέχεια προωθεί την οστεογένεση.[15]

Οι λόγοι που μπορούν να οδηγήσουν σε νόσημα μπορεί να οφείλονται σε διάφορους παράγοντες όπως η έλλειψη μετανάστευσης MSC στη θέση της βλάβης, είτε λόγω ανεπάρκειας αριθμού MSCs σε ένα ελάττωμα αυξημένου μεγέθους (Critical-sizedefects, CSD), είτε εξαιτίας της αποτυχίας διαφοροποίησης των MSC σε οστεοβλάστες ή λόγω λανθασμένης διαφοροποίησης τους. Ο ακριβής μηχανισμός των MSCs που βρίσκονται στο σημείο του τραυματισμού δεν είναι ακόμα σαφής, ωστόσο, οι κυτοκίνες και οι αυξητικοί παράγοντες που απελευθερώνονται στη θέση του οστικού ελαττώματος φαίνεται ότι διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην δράση των MSCs, αυτή η γνώση θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην πρόληψη με την ανίχνευση νοσημάτων των οστών. Η δραστηριότητα των MSCs στην διαδικασία της αγγειογένεσης έχει προταθεί ότι συμβάλει σημαντικά στην αναγεννητική ικανότητα των οστών.[15]

Υπάρχουν πολλά μονοπάτια σηματοδότησης που εμπλέκονται στη διαφοροποίηση των MSC και των οστεοβλαστών. Κάποια από αυτά όπως είναι η οδός σηματοδότησης Wnt, οι BMPs, το TGF-β μονοπάτι, έχουν αναγνωριστεί ότι συσχετίζονται με την οστεογονική διαφοροποίηση και την δράση των BMSCs. Σε μελέτη όπου χρησιμοποίηθηκαν μικροσυστοιχίες DNA ή DNA microarrays αποκάλυψε 13 πυρηνικά γονίδια και 6 lncRNAs,

τα FR374455, XR_111050, NR_024031, FR406817, FR148647 και FR401275 που έχουν άμεση εμπλοκή με την λειτουργία των παραπάνω μονοπατιών. Κάνοντας εν συνεχεία RNA sequencing εντοπίστηκάν κάποια lncRNAs τα οποία επιτελούν έναν κύριο ρόλο στην προώθηση της οστεογονικής διαφοροποίησης στοχεύοντας σε συγκεκριμένα γονίδια όπως είναι το WNT2, το COL21A1 και το COL4A4.

Ενά lncRNA που έχει συσχετιστεί άμεσα με τη νόσο της OP είναι το lncRNA 1 (ORLNC1), το οποίο έχει βρεθεί σε μελέτη των Yang et al, το 2019[134] να έχει αυξημένη έκφραση όχι μόνο σε BMSCs ή στον ορό οστεοπορωτικών ποντικών, αλλά και στον οστικό ιστό των οστεοπορωτικών ασθενών, αποδείχθηκε ότι θα μπορούσε να μειώσει την οστεογονική διαφοροποίηση των BMSCs. Επιπλέον, αποδήχτηκε ότι το ORLNC1 που είναι ένα ανταγωνιστικό ενδογενές RNA (ceRNA) για το miR-296, το οποίο, στοχεύοντας στην ALP και στο PTEN, που είναι ένας γνωστός αρνητικός ρυθμιστής της οστεογένεσης, θα είχε ως αποτέλεσμα την μειώση της οστεογένεσης.[92]

Ομοίως, οι Chen et al. βρήκάν ότι με την έγχυση του miR-503 ανταγομίρη, που είναι ένα ειδικά χημικά τροποποιημένο miRNA, τυλιγμένο με φακοϊό σε ποντίκια OVX, απετράπει η απώλεια οστού καθώς επιτυγχάνθηκε η αναστολή της οστικής απορρόφησης. Επίσης επιτυγχάνοντας την αποσιώπηση του miR-106b με την ενέσιμη εφαρμογή του αναστολέα miR-106b συνδεδεμένο με φακοϊό, κατάφεραν να επιταχύνουν τον ρυθμό της διαδικασίας της οστεογένεσης των MSCs με αποτέλεσμα τον περιορισμό του νοσήματος της OP. Συνοψίζοντας αποδεικνύεται πως τα miRNAs είναι μόρια πολλά υποσχόμενα για τη θεραπεία μεταβολικών νοσημάτων των οστών όπως είναι αυτό της OP.

Οι επιδράσεις των miRNAs στη ρύθμιση της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης και λειτουργίας επιβεβαιώνουν ότι τα miRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της οστεογονικής διαφοροποίησης των MSCs.[100]

Το miR-150-3p έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας ρυθμιστικός παράγοντας των φλεγμονωδών μονοπατιών σηματοδότησης και ότι η οστεογονική διαφοροποίηση των hBMSCs κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της φλεγμονής κατά τη διαδιακασία του σχηματισμό των οστών.[100] Επίσης, βρέθηκε ότι προάγει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών σε ασθενείς με οστεοπόρωση και για το λόγο αυτό θεωρήθηκε ότι είναι μια πολύ σημαντική ένδειξη στην προσπάθεια έυρεσης αποτελεσματικής θεραπείας για ασθενείς με OP.[100] Ενώ στην κλινική πρακτική βρέθηκε από τους Qiu et al, το 2021[135] ότι η τοπική έγχυση εξωσωμάτων που

προέρχονται από BMSCs που περιέχουν miR-150-3p με τους παράγοντες Runx2 και Osterix να εμφανίζουν αυξημένη έκφραση, προήγαγαν την αποκατάσταση των οστικών βλαβών σε μηριαίους ιστούς ποντικιών με OVX.

Όταν πρόκειται για θεραπεία με miRNA, η τοπική έγχυση του miRNA είναι η πιο εύκολη και πιο γρήγορη και με άμεσο τρόπο. Μια αρκετά σημαντική μελέτη είναι αυτή των Ma et al, 2020[136] οι οποίοι τεκμηρίωσαν ότι η έκφραση του miR-497-5p, που θεωρείται κλινικά σημαντικός βιοδείκτης για την οστεοπόρωση, εμφάνισε μειωμένη έκφραση στους ιστούς των οστών σε γηρασμένα ποντίκια και έπαιξε σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των οστών. Ενώ με αφορμή αυτά τα αποτελέσματα της έρευνας οι Gu et al, το 2020[137] σε μελέτη που έκαναν σε αρουραίους OVX βρήκαν ότι η έκφραση του miR-497 μειώνεται στην OP ενώ όταν είναι αυξημένη προάγει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και τη σύνθεση του κολλαγόνου ρυθμίζοντας στη συνέχεια την οδό σηματοδότησης TGF-β1/Smad, με αποτέλεσμα τον περιορισμό της εξέλιξης της νόσου. Επομένως, εγχύοντας miR-497 στις αρθρώσεις, έδειξαν ότι το miR-497 είχε θεραπευτική επίδραση στην οστεοπόρωση του αρουραίου.[100]

Επίσης και η χρησιμότητα των lncRNAs είναι μεγίστης σημασίας στην εύρεση νέων θεραπευτικών στρατηγικών για το λόγο αυτό έχουν γίνει πολλές μελέτες. Σε μια μελέτη των Zang et al, το 2019[138] βρέθηκε ότι τα BMSC που απομονώθηκαν από ασθενείς με οστεοπόρωση εμφανίσαν χαμηλή έκφραση της BMP1, της οποίας η έκφραση ρυθμίζεται από το miR-29b-3p. Το lncRNA NEAT1 φαίνεται με τη σειρά του να στοχεύει το miR-29b-3p με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται η αύξηση της έκφρασης της BMP1 στα hBMSC για να επιτύχει έτσι την προώθηση της οστεογονικής διαφοροποίησης. Αντίθετα όμως in vitro παρατηρήθηκε ότι, το lncRNA XIXT μείωσε την οστεογονική διαφοροποίηση των hBMSC μειώνοντας το Runx2 μέσω του miR-30a-5p. Επομένως, παρατηρείται ότιη δράση πολλών lncRNAs σε μια συγκέκριμένη διαδικασία εμφανίζουν διαφόρετικές λειτουργίες οι οποίες σχετίζονται με την εμφάνιση νοσημάτων και έτσι η θεραπεία τους έγγυται στην αναστολή ή την ενίσύση αυτής τους της δράσης ώστε να περιοριστεί η νόσος ή και να επέλθει η ίαση.[92]

Οι Wang et al διαπίστωσαν ότι με τη χορήγηση ένεσης οστεοκλαστών που εμπλουτίστηκε με siRNA του LINC00311 και εγχύθηκε στην περιτονιακή κοιλότητα αναστάλθηκε ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και περιορίστηκε η εξέλιξη της OP σε αρουραίους OVX αφού ενεργοποιήθηκε ομαλά η διαδικασία της οστεογένεσης.

Μια ακόμα σημαντική μελέτη των Yang et al, βρέθηκε ότι όταν χορηγήθηκε σε ποντίκια OVX με OP ενέσιμα στο μυελό των οστών προϊον από BMSCs που προέρχονταν από το lncRNA MALAT1 τα συμπτώματα της OP αμβλήθηκαν. Αυτές οι μελέτες είναι το έναυσμα για νέες έρευνες καθώς τέθηκε η υπόθεση ότι τα lncRNAs είναι ένας πιθανός υποψήφιος στόχος για τη θεραπεία της OP μελλοντικά. Έτσι οι Li et al, το 2020[139] με τη σειρά τους διαπίστωσαν ότι ο συνδυασμός των si-LNC_000052 και του agomir-miR-96-5p είχε καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα στην μετεμμηνοπαυσιακή OP. Χορηγήθηκε ενέσιμα σε αρουραίους και τα συμπτώματα της OP ήταν ηπιότερα, λειτούργησε δηλαδή ανακουφιστηκά.[100]

Τέλος, όπως είναι ήδη γνωστό, η ικανότητα που έχουν τα οστά για αυτοανανέωση με την λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, του πολλαπλασιασμού αλλά και της διαφοροποίησης των σκελετικών βλαστικών κυττάρων είναι ο μηχανισμός που προωθεί την καλή υγεία των οστών.[6] Ωστόσο οι ενεργοποιητές γνωστοί και ως Wnts ρυθμιστές που εκκρίνονται από οστεοβλάστες ρυθμίζουν στενά τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών. Η γνώση αυτή και έπειτα από μια σειρά μελετών που έχουν γίνει και θα μπορούσαν να γίνουν περισσότερες μελοντικά, φαίνεται ότι οι Wnts ρυθμιστές θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην δημιουργία νέων θεραπευτικών φαρμάκων για το νόσημα της OP.[24]

Οι Yin et al, το 2021[140] εν συνεχεία έξήγαγαν παρόμοια αποτελέσματα όταν συνδύασαν siRNA των lncAK039312 και lncAK079370 και τα χορήγησαν σε ποντικούς OVX, τόσο σε θεραπευτικό επίπεδο όσο και στην ανακούφιση των συμπτωμάτων της OP. Σε μελέτη αυτή τους τη μελέτη βρέθηκε ότι τα lncRNAs AK039312 και AK079370 εμπλέκονται στην αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και του σχηματισμού οστού στοχεύοντας το miR-199b-5p και ότι το ρυθμισμένο προς τα πάνω GSK-3β καταστέλλει περαιτέρω το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt/β-κατενίνης. Η μελέτη αυτή έθεσε την υπόθεση ότι αυτή η λειτουργία φαίνεται να περιορίζει την εξέλιξη της οστεοπόρωσης σε μεταεμμηνοπαυσιακά ποντίκια, παρέχοντας έτσι μια νέα κατεύθυνση για τη θεραπεία της οστεοπόρωσης στους ανθρώπους. Επίσης σε μια άλλη μελέτη των Wang et al, το 2020[141] ανεφέρθηκε η μειωμένη έκφραση του lncRNA DANCR σε ασθενείς με ωοθηκεκτομής που είχαν οστεοπόρωση, ένω η έκφραση του lncRNA DANCR σε BMSC που προέρχονται από ασθενείς με οστεοπόρωση ήταν αυξημένη. Επιπλέον, το DANCR μπορεί να καταστείλει την οστεογονική διαφοροποίηση στην οστεοπόρωση καταστέλλοντας το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt/β-

κατενίνης ρυθμίζοντας την έκφραση του γονιδίου CTNNB1. Ευρήματα πολύ σημαντικά που μπορούν να χρησιμοποίηθουν για την δημιουργία νέων θεραπειών σε ανθρώπους με ΟΡ.[100]

5.1 Μελλοντικές κατευθύνσεις της θεραπείας στην κλινική πράξη

Η εκδήλωση φλεγμονής στα οστά οδηγεί στην εκκίνηση μιας διαδικασίας του ανοσοποιητικού συστήματος για την αντιμετώπιση της που δεν είναι απόλυτα αποσαφηνισμένη αλλά σίγουρα έχει καθοριστικό ρόλο στην ανακατασκευή των οστών. Όταν αυτή η φλεγμονή δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά και παραμένει ενεργή, γίνεται επιβλαβής καθώς καθυστερεί την επούλωση του σημείου τραυματισμού του οστού.[15]

Με βάση την μελέτη των Liu et al, το 2018 βρέθηκε ότι για την έναρξη της διαδικασίας της οστικής επιδιόρθωσης, η ύπαρξη της φλεγμονής είναι αυτή που παίζει σημαντικό ρόλο στη δράση και τη λειτουργία των MSCs ως προς τον τρόπο που κατευθύνονται στο σημειό της φλεγμονής δηλαδή στον τρόπο μετανάστευσης τους, αλλά και στον τρόπο διαφοροποίησης τους, ώστε να επιταχυνθεί η διαδικασία της ανακατασκευής και αποκατάστασης των οστών από την βλάβη. Επομένως, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, της απόπτωση καθώς και της μετανάστευσης των κυττάρων. Η μελέτη των Zheng et al, το 2020[142] απέδειξε ότι το lncRNA TINCR εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση καθώς και στη μετανάστευση των κυττάρων. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η ανοδική ρύθμιση του TINCR προώθησε την κυτταρική μετανάστευση των MSCs σε αρουραίους ένω μείωσε την έκφραση του miR-761, το οποίο με τη σειρά του στόχευε το Wnt2. Έτσι, το TINCR ενήργησε ως ανταγωνιστικό ενδογενές (ceRNA) τόσο για την αύξηση του Wnt2 όσο και για την προώθηση της μετανάστευσης των MSCs σε αρουραίους. Μένει να επιβεβαιωθεί και σε ανθρώπους ια διαδικασία χρονοβόρα και δύσκολή και με την πιθανότητα να μην επιβεβαιωθεί λόγω διαφορετικών τρόπων δράσης των MSCs στους ανθρώπους.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η συμβολή των κυτοκινών είναι διττή καθώς έχουν την ικανότητα και να προάγουν την επούλωση της φθοράς ή βλάβης των οστών ενώ μπορούν και να αναστείλουν αυτή την διαδικασία. Τα MSC που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην θεραπεία μέσω μεταμοσχεύσεως, επίσης έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε

οστεοβλάστες άλλα μπορούν να έχουν είτε προφλεγμονώδη είτε ανοσοκατασταλτικό ρόλο. Έχει αποδειχθεί βάση μελετών ότι η παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, IL-6, IL-12p70 και IFN-γ, καταστέλλεται σημαντικά από μακροφάγα MSCs, ενώ η παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτοκινών όπως IL-10 και Η IL-12p40 αυξάνονται. Η αναστολή της απόπτωσης των οστεοβλαστικών κυττάρων από τη δράση των MSCs θα μπορούσε επίσης να επιταχύνει τη διαδικασία της επούλωσης των οστών.[15]

Η προώθηση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών, συμβαίνει εξαιτίας της αναστολής της έκφρασης δυο βασικών μεταγραφικών παραγόντων για το σχηματισμό των οστών το Runx2 και το Osterix. Επομένως, τα MSC συμβάλλουν έμμεσα στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και στην αναγέννηση των οστών. Τέλος μια άλλη μελέτη έδειξε ότι στην προσπάθεια επούλωσης του κατάγματος ή της φθοράς του οστού τα μεταμοσχευμένα MSCs προωθούν την έκφραση του BMP-2, το οποίο προκαλεί τόσο τον σχηματισμό των οστών όσο και των χόνδρων.[15]

Οι ερευνητές σε μια προσπάθεια εύρεσης νέων μοντέλων θεραπείας προσπαθούν να συνδυάσουν την γονιδιακή θεραπεία με τη θεραπεία με βλαστοκύτταρα προκειμένου να ενισχυθούν και να αποκτήσουν αποτελεσματικότερες αναγεννητικές ικανότητες. Τις δυο τελευταίες δεκαετίες με σκοπό να ενισχυθούν οι λειτουργίες των MSCs στοχεύθηκαν ορισμένα γονίδια τα οποία ενεργοποιήθηκαν εξαιτίας της εφαρμογής ιϊκών μεθόδων με ρετροϊούς και αδενοϊούς με σκοπό τη μεταφορά του εκάστοτε επιθυμητού γονιδίου σε MSCs. Αν και οι μέθοδοι που βασίζονται σε ιούς παρέχουν την έκφραση των επιθυμητών γονιδίων, δεν είναι ασφαλείς και μπορεί να προκαλέσουν έντονη ανοσολογική απόκριση ή τοξικολογικές επιδράσεις στο σώμα.[15]

5.2 Τα ncRNAs ως νέοι θεραπευτικοί στόχοι αλλά και ως διαγνωστικά-προγνωστικά εργαλεία στα νοσήματα των οστών

Τα microRNAs και τα lncRNAs εμπλέκονται στην εμφάνιση διαφόρων νοσημάτων των οστών και η χρησιμότητα τους στη θεραπεία είναι μεγίστης σημασίας.[46]

Η θεραπεία με miRNAs βασίστηκε στην διαφορά των επιπέδων έκφρασης που εμφανίζουν κατά την διάρκεια της διαδικασίας της οστεοβλαστογένεσης και της οστεοκλαστογένεσης

καθώς η δραστηριότητα τους αυτή μπορεί να είναι είτε ευεργετική είτε να προκαλεί νοσήματα των οστών. Ως θεραπευτικός στόχος τίθεται η χρήση μορίων που μιμούνται ή ενισχύουν την λειτουργία των miRNA ή ακόμα αναστέλλουν τη δράση τους στοχεύοντας την αλληλουχία των miRNA με αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (ASO).[46]

Σε σύγκριση με άλλα ncRNA, τα miRNA παρουσιάζουν τεράστιες δυνατότητες και ικανότητες στοχοθέτησης στόχων «μη φαρμακευτικών ουσιών», οι οποίοι θα μπορούσαν να σχεδιαστούν για να ενεργούν σχεδόν σε όλα τα γονίδια.

Παρόλου που αρκετά ncRNA εγκρίθηκαν σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία ορισμένων ασθενειών, στη θεραπέια της ΟΑ δεν υπάρχουν εγκεκριμένες κλινικές δοκιμές. Ένας περιορισμός που υπάρχει σχετικά με την χρήση των ncRNAs στη θεραπεία της ΟΑ είναι ο τρόπος που θα εμπλουτίζοταν το σήμειο που έχει τις αλλοιώσεις να είναι αποτελεσματικός και ασφαλής. Έχει χρησιμοποιηθεί έγχυση miRNA ενδοαρθρικά σε συνδιασμό με αδενοϊούς ή φακοϊούς σε μοντέλα ποντικών και αρουραίων με ΟΑ. Οι Wang et al σε μια μελέτη που βασίστηκε σε αυτό το πρότυπο βρήκαν ότι η έγχυση miR-483-5p καθυστέρησε την εξέλιξη της ΟΑ, ενώ οι Dai et al διαπίστωσαν ότι ο αναστολέας miR-101 θα μπορούσε 14 ημέρες μετά την εφραμογή του να αποτρέψει την αποικοδόμηση του χόνδρου.

Η χρήση ιικών φορέων όμως, έχει κάποιου σημαντικούς περιορισμούς καθώς θέτει σε κίνδυνο τη βιολογική ασφάλεια των ιστών εγαιτίας της τοξικότητας τους, της ενεργοποίησης του ανοσοποίητικου και της πιθανής καρκινογένεσης. Για το λόγο αυτό γίνεται προσπάθεια να γίνουν και μελέτες βασισμένες σε μη ιικοί φορείς που μπορούν να προσφέρουν αποτελεσματικά miRNA και με ασφάλεια.

Τα τελευταία χρόνια, η αποτελεσματικότητα των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (MSCs) στην αποκατάσταση του χόνδρου έχει αποδειχθεί σε ζωικά μοντέλα και κλινικά δοκιμές. Οι θεραπείες εξωσωμάτων που προέρχονται από MSC ήταν αποτελεσματικές στην αποκατάσταση του χόνδρου. Έτσι οι Tao et al χορήγησαν ενέσιμα στην άρθρωση του γόνατος αρουραίων, εξωσώματα προερχόμενα από MSC και περιέχουν miR-140-5p. Το αποτέλεσμα αυτής της έγχυσης η αναγέννηση του ιστού του χόνδρου. Επομένως, τα εξωσώματα που περιέχουν ncRNA και προέρχονται από τροποποιημένα κύτταρα είναι πολλά υποσχόμενα για νέες μελοντικές θεραπευτικές στρατηγικές.

Τέλος, τα ncRNAs έχουν συσχετιστεί με την εκδήλωση ορισμένων νοσημάτων ή την πορεία της νόσου και εξαιτίας αυτής της γνώσης μπορούν να εξαχθούν σημαντικές διαγνωστικές ή προγνωστικές κλινικές πληροφορίες για νοσήματα των οστών, επομένως τα ncRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες χαρακτηρίζοντας έναν άνθρωπο-ασθενή ύποπτο για την εμφάνιση νοσήματος ή να καθοδηγήσουν αντίστοιχα την θεραπευτική παρέμβαση. Τα lncRNA και τα miRNA μπορεί να έχουν έλξει την προσοχή των περισσότερων ερευνητών όμως, τα circRNAs είναι ένας πολλά υποσχόμενος βιοδείκτης για την ανίχνευση νοσημάτων των οστών, καθώς βρίσκονται σε αφθονία στα σωματικά βιολογικά υγρά και είναι πιο σταθερά μόρια λόγω του σχήματος τους.[46]

Ωστόσο η πλειοψηφία των τρεχουσών μελετών αφορούν τα ncRNAs. Πιο συγκεκριμένα, τα lncRNAs που μπορεί να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες δεν έχουν καθοριστεί ακόμη, καθώς πρέπει να γινούν περαιτέρω μελέτες. Είναι πολύ σημαντικό αρχικά να αποδειχθεί ότι τα ncRNAs ως βιοδείκτες υπερτερούν έναντι των ήδη υπάρχων βιοδεικτών, σε διαφορετική περίπτωση θα πρέπει να επιβεβαιωθεί η χρησιμότητα της δράσης αυτών των νέων ncRNAs βιοδεικτών σε συνδυασμό με τη δράση των βιοδεικτών που χρησιμοποιούνται ήδη ώστε να αντιμετωπιστούν ελλείψεις που υπάρχουν από την έως τώρα αποκλειστική χρήση των δεύτερων, επίσης το κόστος, η ευχρηστία τους και η αποτελεσματικότητα τους είναι παράγοντες που πρέπει να αξιολογηθούν.[46]

6. Συμπεράσματα – Μελλοντικές Προοπτικές

Τα ncRNAs θεωρούνται ως νέοι θεραπευτικοί στόχοι για νοσήματα των οστών καθώς η χρήση τους έχει αρκετα πλεονεκτημα έναντι των υπάρχουσων θεραπειών καθώς είναι αρκετά ανθεκτική σε περιπτώσεις που εφαρμόζεται χημειοθεραπεία, εάν υπάρχει καρκίνος, έχουν υψηλή αποδοτικότητα και χαρακτηρίζονται από τα χαμηλά επίπεδα τοξικότητας.

Ο συνδιασμός διαφορετικών ειδών ncRNA μπορεί να έχουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από την χρήση μεμονομένων ncRNA. Παρόλου που αρκετές δεκατίες μελετώνται τρόποι θεραπείας για νοσήματα των οστών τις τελευταίες δεκατίες από το 1990 και μετά τα ncRNAs προσέλκυσαν την προσοχή ολοένα και περισσότερων επιστημόνων. Ωστόσο, η έλλειψη της κλινικής έρευνας αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα αυτού του ερευνητικού πεδίου.

Τα ncRNAs που έχουν αναγνωριστεί ως μόρια RNA που επιδρούν σημαντικά στη βιολογία των κυττάρων και εμπλέκονται τόσο στη εμφάνιση νοσημάτων όσο και στην πρόγνωση ή διάγνωσή τους. Το σημαντικότερο όμως είναι ο ρόλος που φαίνεται να αποκτούν στην θεραπεία αρκετών νοσημάτων συμπεριλαμβανομένων των νοσημάτων των οστών όπως και κακοηθειών τους ή και μεταστάσεων όγκων που απαντώνται στα οστά. Για το λόγο αυτό είναι αρκετά πιθανό μελλοντικά να μελετηθούν όλο και περισσότερα ncRNAs σε διάφορες μελέτες με στόχο την ανάπτυξη νέων δραστικών φαρμάκων και θεραπευτικών σχημάτων για τη βελτίωση ή και πλήρη ίαση των παραπάνω παθέσεων.

Οι λόγοι που οδήγησαν την επιστημονική κοινότητα να μελετά όλο και περισσότερο την λειτουργία των ncRNAs καθώς και του τρόπου που επλέκονται σε νοσήματα των οστών είναι το γεγονός ότι ο οστικός ιστός χαρακτηρίζεται από την υψηλή συγκέντρωση ασβεστίου, αυτό έχει ως περιορισμό ότι την χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων με συγκεκριμένη φαρμακολογική δράση, εν συνεχεία η κυριότερη ανησυχία των επιστημόνων για την εφαρμογή του ncRNA στη θεραπεία νοσημάτων των οστών είναι η δυσκολία στην χορήγηση των ncRNAs στον οστικό ιστό και τέλος, το υψηλό κόστος περιορίζει την ευρεία χρήση τους ως θεραπευτικό εργαλείο.

Σχετικά με το συχνότερο μεταβολικό νόσημα των οστών που ειίναι η ΟΡ, αν και διάφορα αναβολικά φάρμακα εφαρμόζονται στη θεραπεία της, έχουν έντονες ανεπιθύμητες παρενέργειες καθώς και αντενδείξεις στη χρήση τους, που περιορίζουν την ποιότητα ζωής των ασθενών. Επομένως, είναι επιτακτική ανάγκη να προσδιοριστεί η θεραπευτική δυνατότητα και η δράση των ncRNAs στην οστεοπόρωση. Η έρευνα που σχετίζεται με τη λειτουργία των miRNAs στη ρύθμιση της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού, της απόπτωσης και της αυτοφαγίας των BMSCs, των οστεοβλαστών και των οστεοκλάστων έχει αυξηθεί σημαντικά, παρόλα αυτά δεν είναι πολλές αυτές που διεξήχθησαν in vivo με αποτέλεσμα να απαιτείται να γίνουν περαιτέρω έρευνες σχετικά με τα miRNAs που να αφορούν τη μελέτη της ομοιόστασης των οστών in vivo.

Από την άλλη μεριά τα lncRNA και τα circRNA που έχουν βρεθεί ότι εμπλέκονται με το νόσημα της ΟΡ είναι σχετικά πρόσφατα και λιγότερο μελετημένα. Παρόλα αυτά η χρήση τους στη θεραπεία είναι αναμφιβολα ελπιδοφόρα. Συγκεκριμένα, ο ρόλος των circRNAs στη διατήρηση της ομοιόστασης των οστών απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση καθώς είναι ακόμα σε αρχική φάση μελετών με περιορισμένη γνώση που αφορά την εμπλοκή τους στη ρύθμιση της λειτουργίας των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών.

Αν και πολυάριθμες πρόσφατες μελέτες έχουν διερευνήσει τους μηχανισμούς των ncRNAs στην εξέλιξη της οστεοπόρωσης, περιορισμένη έρευνα σχετικά με τα σημαντικά ncRNAs έχει μεταφραστεί κλινικά. Επιπλέον, in vivo μελέτες που ερευνούν διαφορικά εκφρασμένα ncRNA στον οστικό ιστό σε διαφορετικά στάδια οστεοπόρωσης είναι επί του παρόντος ανεπαρκή. Επομένως, ο εντοπισμός περισσότερων επακόλουθων ncRNAs που σχετίζονται με την οστεοπόρωση και η διεξαγωγή ουσιαστικής κλινικής μεταφραστικής έρευνας είναι μεγάλης σημασίας για την κατανόηση του παθολογικού μηχανισμού, την πρόληψη και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης.

Τα μη κωδικά ncRNAs, όπως τα miRNAs, τα lncRNAs και τα circRNAs, έχουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση ή τον περιορισμό του νοσήματος της οστεοπόρωση, όπου η ανισορροπία της οστικής και λιπώδους μάζας αποτελεί το τυπικό χαρακτηριστικό της παθογένεσης της οστεοπόρωσης, που επιτυγχάνεται μέσω της μετα μεταγραφικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα ncRNAs συμμετέχουν στη διατήρηση της ομοιόστασης των οστών ρυθμίζοντας έτσι τις φυσιολογικές και αναπτυξιακές λειτουργίες στους οστεοβλάστες, τους οστεοκλάστες και τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, BMSCs. Λόγω της αφθονίας και της ικανότητάς τους να επηρεάζουν τις διαφορετικές λειτουργίες του μεταβολισμού των οστών, τα lncRNAs και τα circRNAs έχουν αποδειχθεί ως νέοι βιοδείκτες για νοσήματα των οστών, με πιθανή εφαρμογή στη διάγνωση και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης.

Όπως είναι γνωστό, τα ncRNAs ανήκουν σε επιγενετικούς μηχανισμούς ελέγχου, οι οποίοι είναι κληρονομικές φαινοτυπικές τροποποιήσεις, που δεν οφείλονται σε αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Για το λόγο αυτό τα lncRNAs έχουν αποκτήσει τη μεγάλη προσοχή των ερευνητών καθώς είναι επιγενετικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης σε πολλούς ιστούς. Μετά από ένα σημαντικό αριθμών μελετών διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις που δείχνουν ότι τα lncRNAs, μαζί με τα miRNAs, επιτελούν σημαντικές

λειτουργίες και έχουν έναν καθοριστικό ρόλο στην οστεογένεση. Ο μηχανισμός δράσης αυτών των δυο ncRNAs είναι διαφορετικός καθώς, ο μηχανισμός δράσης των miRNA βασίζεται κυρίως στην αλληλεπίδραση miRNA-mRNA, με αποτέλεσμα την καταστολή της έκφρασης του mRNA, ενώ τα lncRNA επηρεάζουν τη λειτουργικότητα του mRNA μέσω διαφορετικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένης βέβαια της αλληλεπίδρασή τους με τα miRNA.

Η αλληλεπίδραση των lncRNA με τα miRNA κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των MSCs που προέρχονται από το μυελό των οστών, καθώς και από διάφορες άλλες ανατομικές περιοχές θα συνδράμει στην εξαγωγή κρίσιμων συμπερασμάτων και παροχή πληροφορίων επομένως και γνώση σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς υγιούς/φυσιολογικής ανάπτυξης αλλά και γήρανσης των οστών. Στόχος είναι, αυτή η γνώση να χρησιμοποιηθεί για την ανακάλυψη καινοτόμων διαγνωστικών και θεραπευτικών εργαλείων που βασίζονται στα ncRNAs για τη βελτίωση/περιορισμό ή ίαση, νοσημάτων των οστών.

Τα miRNAs επιτελούν σημαντικές λειτουργίες στην κυτταρική λειτουργία, συμπεριλαμβανομένης της επιβίωσης και της διαφοροποίησης των MSCs. Μέχρι σήμερα έχουν γίνει διάφορες μελέτες μεταξύ των οποίων και ορισμένες όπου τα αποτελέσματα τους ανέδειξαν διαφορές, ως προς τον τρόπο δράσης τους στην διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, σε σχέση με τα κύτταρα που εμπλέκονται στην οστεογένεση. Αναλυτικότερα ορισμένα miRNAs εμφανίζουν διαφορετικά αποτελέσματα στη χονδρογένεση και την οστεογένεση καθώς μπορούν να ασκούν είτε θετική είτε αρνητική ρύθμιση ανάλογα με την περίπτωση. Φυσικά, εμπλέκονται και στην παθογένεση νοσημάτων που σχετίζονται τόσο με το χόνδρο όσο και τον οστικό ιστό.

Ο ακριβής προσδιορισμός και η επιβεβαίωση συγκεκριμένων miRNAs και των στόχων τους που ήδη μελετώνται συστηματικά, θα μπορούσε να είναι το έναυσμα της χρήσης αυτών των miRNA στην κλινική πρακτική για την θεραπεία νοσημάτων των οστών αλλά και κακοηθών όγκων.

Πολλά lncRNA και circRNA λειτουργούν επίσης ως ανταγωνιστικά ενδογενή RNA για πολλά miRNA και σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που στοχεύονται από miRNA και η αλλάγη της έκφρασης τους επηρεάζει με τη σειρά της τη ρύθμιση της διαφοροποίησης των BMSC, των οστεοβλαστών, των οστεοκλαστών αλλά και τη διδιακσία της οστεογένεσης. Από την άλλη μεριά, υπάρχουν και ορισμένα lncRNA και circRNA που η

έκφραση τους ρυθμίζεται προς τα πάνω, είναι δηλαδή αυξημένη, και αυτή η αυξημένη έκφραση τους σχετίζεται με την εκδήλωση νοσήματος, αν αυτά τα lncRNA και circRNA στοχευθούν από γονίδια με σκοπό να αναστείλουν την έκφρασή τους και αυτά που ρυθμίζονται προς τα κάτω, εμφανίζουν δηλαδή μειωμένη έκφραση, μπορούν να διεγερθούν ώστε να εκφραστούν επαρκώς μπορεί να είναι ένας τρόπος ώστε να αυξηθεί ο σχηματισμός οστού και να χρησιμοποιηθεί ως ένα νέο θεραπευτικό εργαλείο για νοσήματα των οστών όπως στην περίπτωση της OP.

Η μέχρι τώρα έρευνα έχει ανοίξει το δρόμο για νέες μελέτες, που θα έχουν ως στόχο την αύξηση της γνώσης σχετικά με το ρόλο των lncRNAs, καθώς τα επίπεδα έκφρασης τους, άλλοτε βρίσκονται να είναι αυξημένα και άλλοτε να παρουσιάζουν μείωση. Η αλλαγή των επιπέδων έκφρασης τους φαίνεται να οδηγεί σε διάφορες τροποποιήσεις και αλλαγές στην ομοιόσταση των οστών που σε κάποιες περιπτώσεις οδηγούν σε νόσημα.

Πιο συγκεκριμένα αφού τα lncRNAs λειτουργούν και ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης αφού δρουν ως ceRNA σε κάποιο γονίδιο στόχο μέσω της άμεσης σύνδεσης του με miRNA δίνουν το έναυσμα για τη διεξαγωγή νέων ερευνών που θα στοχεύουν στην αύξηση της γνώσης σχετικά με τις μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ lncRNAs, miRNAs και mRNAs. Το αποτέλεσμα αυτών των ερευνών θα μπορούσε να δώσει πολύ σημαντικές πληροφορίες και να ανοίξει νέες κατευθύνσεις στην ανάδειξη θεραπευτικών στρατηγικών που θα βασίζονται σε ncRNA και θα σχετίζονται με τα νοσήματα ή τις κακοήθειες των οστών. Τέλος, θεραπείες που θα βασίζονται σε lncRNA τα οποία θα ανταγωνίζονται τα επίπεδα έκφρασης και τις επιδράσεις των ογκογόνων lncRNAs ή που θα αυξάνουν τα επίπεδα έκφρασης και τις επιδράσεις των ογκοκατασταλτικών lncRNAs, είναι μια υπόθεση που θα πρέπει να τεκμηριωθεί και να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά ως θεραπεία που βασίζεται στο RNA για την θεραπεία κακοηθειών και νοσημάτων που αφορούν τα οστά. Το πιο συχνό πρόβλημα που συναντάται σε τέτοιου είδους μελέτες είναι τα ευρήματα που προκύπτουν από την εφαρμογή τους στα πειραματόζωα να μπορούν να αποδειχθούν και να επιβεβαιωθούν και στον άνθρωπό. Ενώ, το κύριο πρόβλημα που εμποδίζει τη χρήση των ncRNAs ως πιθανά θεραπευτικά εργαλεία είναι η σταθερότητα και η απελευθέρωσή τους στα κύτταρα-στόχους, αλλά οι πρόοδοι στις χημικές τροποποιήσεις και στρατηγικές έχουν αποδείξει ότι τα συστήματα χορήγησης μπορούν να βελτιωθούν για τη μείωση των ανεπιθύμητων παρενεργειών.

Νέες μοριακές μέθοδοι χρησιμοποιούνται στην επιγενετική έρευνα καθώς είναι πολύ σημαντικό να διασαφηνιστεί η επιγενετική βάση του φυσιολογικού μεταβολισμού των οστών ώστε να υπάρξει η δυνατότητα να χαρακτηριστούν ως παθολογικές επιγενετικές τροποποιήσεις τα ευρήματα που αποκλίνουν από τα φυσιολογικά και να μελετηθούν εκτενώς είτε για να επιβεβαιωθούν είτε για να απορριφθούν. Αυτή η γνώση θα βοηθήσει στην ανάπτυξη νέων διαγνωστικών εργαλείων, επομένως ενισχύεται η έννοια της διάγνωσης-πρόληψης, που θα προβλέπουν την ανάπτυξη νοσημάτων αλλά τίθεται και η βάση για τον σχεδιασμό νέων σκευασμάτων φαρμάκων καθώς και νέων θεραπευτικών μοντέλων.

Η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός, η απόπτωση και η αυτοφαγία είναι σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες των κυττάρων και κατέχουν κρίσιμους ρόλους στη ρύθμιση των BMSCs, των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών στο μεταβολισμό των οστών. Ωστόσο, ένω υπάρχει ένα σημαντικό πλήθος μελετών που έχει γίνει για την έρευνα της διαφοροποίησης των παραπάνω κυττάρων, έχουν γίνει πολύ λιγότερες μελέτες για την διερεύνηση της απόπτωσης και της αυτοφαγίας στα προαναφερθέντα κύτταρα. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να διευκρινιστεί περαιτέρω ο ρόλος των ncRNAs στις διάφορες φάσεις που επιτελούν τα κύτταρα.

Αν και υπάρχει ένας συνέχης αυξανόμενος αριθμός μελετών σχετικά με την επιγενετική, η ανακάλυψη και άλλων ncRNAs που σχετίζονται με την οστεοπόρωση καθώς και τον προσδιορισμό των αλληλεπιδράσεων τους, θα διευκολύνει την περαιτέρω αποσαφήνιση της παθογένειας της οστεοπόρωσης και της ανάπτυξης πιο αποτελεσματικών φαρμάκων και νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, οι οποίες θα είναι επωφελείς τόσο για τους ασθενείς όσο και για την ιατρική κοινώτητα. Υπάρχουν ορισμένα ncRNA τα οποία εμφανίζονται να έχουν ταυτόχρονα συγκεκριμένο ρυθμιστικό ρόλο σε πάνω από μια ασθένεια και μπορούν να συμμετέχουν στην εμφάνιση και ανάπτυξη όγκων αλλά και στην εξέλιξη της ΟΡ. Αυτό είναι ένα παρα πολύ σημαντικό εργαλείο στα χέρια των ερευνητών ώστε να αποσαφηνιστεί ο ακριβής μηχανισμός που συνδέει τα ncRNAs και την εκδήλωση της ΟΡ ή και άλλων νοσημάτων, με σκοπό τη επιτευξή της νέας θεραπευτικής προσέγγισης και δημιουργίας νέων φαρμάκων που θα σχετίζονται με τα ncRNAs.

Βιβλιογραφία

1. YuichiroT, TomokoM, YujiY. Functional Diversity of Fibroblast Growth Factors in Bone Formation. Int J Endocrinol, 2015;2015:729352.

2. Beederman M, Lamplot J D, Nan G, Wang J, Liu X, Yin L, et al. BMP signaling in mesenchymal stem cell differentiation and bone formation. J Biomed Sci Eng. 2013;(8A):32–52.

3. Aurilia C, Donati S, Palmini G, Miglietta F, Iantomasi T, Brandi M L. The Involvement of Long Non-Coding RNAs in Bone. Int J Mol Sci. 2021;22(8):3909.

4. Yavropoulou M P, Yovos J G. The 'dark matter' of DNA and the regulation of bone metabolism: The role of non-coding RNAs. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2018;18(1): 18–31.

5. Marini F, Cianferotti L, Brandi M L. Epigenetic Mechanisms in Bone Biology and Osteoporosis: Can They Drive Therapeutic Choices? Int J Mol Sci. 2016;17(8):1329.

6. Houschyar K S, Tapking C, Borrelli M, Popp D, Duscher D, Maan Z N, et al. Wnt Pathway in Bone Repair and Regeneration – What Do We Know So Far. Front Cell Dev Biol. 2018;6:170.

7. Lassere M N. The Biomarker-Surrogacy Evaluation Schema: a review of the biomarker-surrogate literature and a proposal for a criterion-based, quantitative, multidimensional hierarchical levels of evidence schema for evaluating the status of biomarkers as surrogate endpoints. Stat Methods Med Res. 2008;17(3):303-40.

8. Scorr F G. Osteogenesis: The Development of Bones. Developmental Biology. Sunderland (MA). 2000;6.

9.Shahi MA, Peymani AM, Sahmani ME. Regulation of Bone Metabolism. Rep Biochem Mol Biol. 2017;5(2):73–82.

10. Chen G, Deng C, Li Yi-P. TGF-β and BMP Signaling in Osteoblast Differentiation and Bone Formation. Int J Biol Sci. 2012;8(2):272–288.

11. Wang M, Yuan Z, Ma N, Hao C, Guo W, Zou G, et al. Advances and Prospects in Stem Cells for Cartilage Regeneration. Stem Cells Int. 2017;2017:4130607

12. Hankenson K D, Dishowitz M, Gray C, Schenker M. Angiogenesis in Bone Regeneration. Injury. 2011;42(6):556-61.

13. Yang Y Q, Tan Y Y, Wong R, Wenden A, Zhang L K, Rabie A Bakr M. The role of vascular endothelial growth factor in ossification. Int J Oral Sci. 2012;4(2):64–68.

14. Sinha K M, Zhou X. Genetic and molecular control of Osterix in skeletal formation. J Cell Biochem. 2013;114(5):975–984.

15. Knight M N, Hankenson K D. Mesenchymal Stem Cells in Bone Regeneration. Adv Wound Care (New Rochelle). 2013;2(6):306–316.

16. Safarova Y, Umbayev B, Hortelano G, Askarova S. Mesenchymal stem cells modifications for enhanced bone targeting and bone regeneration. Regenerative Medicin. 2020;15:(4).

17. Iaquinta M R, Mazzoni E, Bononi I, Rotondo J C, Mazziotta C, Montesi M, et al. Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair. Front Cell Dev Biol. 2019 Nov 12;7:268.

18. Charbord P. Bone marrow mesenchymal stem cells: historical overview and concepts. INSERM Subrepository. Hum Gene Ther. 2010;(9):1045–1056.

19. Oryan A., Kamali A. a · Moshiri A., Baghaban Eslaminejad M. Role of Mesenchymal Stem Cells in Bone Regenerative Medicine: What Is the Evidence? Cells Tissues Organs 2017;204:59-83.

20. Aaron W. James. Review of Signaling Pathways Governing MSC Osteogenic and Adipogenic Differentiation. Scientifica (Cairo). 2013;2013:684736.

21. Novoseletskaya E, Grigorieva O, Nimiritsky P, Basalova N, Eremichev R, Milovskaya I. Mesenchymal Stromal Cell-Produced Components of Extracellular Matrix Potentiate Multipotent Stem Cell Response to Differentiation Stimuli. Front Cell Dev Biol. 2020;8:555378.

22. Galderisi U, Giordano A, Paggi MG. The bad and the good of mesenchymal stem cells in cancer: boosters of tumor growth and vehicles for targeted delivery of anticancer agents. World J. Stem Cells. 2010;2(1):5–12.

23. Ling M, Huang P, Islam S, Heruth D P, Li X, Zhang L Q, et al. Epigenetic regulation of Runx2 transcription and osteoblast differentiation by nicotinamide phosphoribosyltransferase. Cell & Bioscience. 2017;27(7).

24. Kobayashi Y, Uehara S, Udagawa N, Takahashi N. Regulation of bone metabolism by Wnt signals. J Biochem. 2016;159(4):387-92.

25. Park J H, Lee N K, Lee S Y. Current Understanding of RANK Signaling in Osteoclast Differentiation and Maturation. Mol Cells. 2017;40(10):706–713.

26. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. Inflammation and Regeneration. 2020;40(2).

27. Liu Q, Li M, Wang S, Xiao Z, Xiong Y, Wang G. Recent Advances of Osterix Transcription Factor in Osteoblast Differentiation and Bone Formation. Front. Cell Dev. Biol. 2020;.8:601224.

28. Katagiri T, Takahashi N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. Oral Dis. 2002;8(3):147-59.

29. Zhao W, Wang G, Zhou C, Zhao Q. The regulatory roles of long noncoding RNAs in osteoporosis. Review Am J Transl Res. 2020;12(9):5882-5907.

30. Feng Q, Zheng S, Zheng J. The emerging role of microRNAs in bone remodeling and its therapeutic implications for osteoporosis. Biosci Rep. 2018;38(3):BSR20180453.

31. Komori T. Regulation of Proliferation, Differentiation and Functions of Osteoblasts by Runx2. Int J Mol Sci. 2019;20(7):1694.

32. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. Adv Exp Med Biol. 2010;658:43-9.

33. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng J M, Behringer R R, Crombrugghe B. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. Cell. 2002;108(1):17-29.

34. Cao Y, Zhou Z, Crombrugghe B, Nakashima K, Guan H, Duan X, et al. Osterix, a Transcription Factor for Osteoblast Differentiation, Mediates Antitumor Activity in Murine Osteosarcoma. Cancer Res. 2005;65(4):1124-8.

35. Moon Y J, Yun C Y, Choi H, Kim J R, Park B H, Cho E S. Osterix regulates corticalization for longitudinal bone growth via integrin β3 expression. Experimental & Molecular Medicine. 2018;50:1–11.

36. Xing W, Godwin C, Pourteymoor S, Mohan S. Conditional disruption of the osterix gene in chondrocytes during early postnatal growth impairs secondary ossification in the mouse tibial epiphysis. Bone Res. 2019;7:24.

37. Maeda K, Kobayashi Y, Koide M, Uehara S, Okamoto M, Ishihara A, Kayama T,et al. The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling. Int J Mol Sci. 2019;20 (22): 5525. doi: 10.3390/ijms20225525

38. Duan P, Bonewald L F. The Role of the Wnt/β-catenin Signaling Pathway in Formation and Maintenance of Bone and Teeth. Int J Biochem Cell Biol. 2016;77(Pt A):23-29.

39. Gong Y, Slee R.B, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato A M, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. Cell. 2001;107:513–523.

40. Niehrs C. The complex world of WNT receptor signalling. Nature Reviews Molecular Cell 2012;13:767–779.

41. Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. Neuron. 2000;28(3):713-726

42. Groppe J, Greenwald J, Wiater E, Rodriguez-Leon J, Economides AN, Kwiatkowski W. et al. Structural basis of BMP signalling inhibition by the cystine knot protein Noggin. Nature. 2002;420:636–42.

43. Du X, Xie Y, . Xian C J, Chen L. Role of FGFs/FGFRs in skeletal development and bone regeneration. J Cell Physiol.2012;227(12)3731-3743.

44. Su N, Chen M J L. Role of FGF/FGFR signaling in skeletal development and homeostasis: learning from mouse models. Bone Research. 2014;2:14003.

45. Jacob A L, Smith C, Partanen J, Ornitz D M. Fibroblast growth factor receptor 1 signaling in the osteo-chondrogenic cell lineage regulates sequential steps of osteoblast maturation. DevBiol. 2006;296(2):315-28.

46. Huynh Nguyen P. T, Anderson B A, Guilak F, McAlindena A. Emerging roles for long noncoding RNAs in skeletal biology and disease. Connect Tissue Res. 2017;58(1):116–141.

47. Beermann J, Piccoli M T, Janika, Viereck T T. Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. Physiol Rev. 2016;96(4):1297-325.

48. Aurilia C, Donati S, Palmini G, Miglietta F, Iantomasi T, Brandi M L. The Involvement of Long Non-Coding RNAs in Bone. Academic Editor: Miguel Hueso Int. J. Mol. Sci. 2021;22(8):3909.

49. Sakamoto N, Honma R, Sekino Y, Goto K, Sentani K, Ishikawa A, Oue N, Yasui W. Non-coding RNAs are promising targets for stem cell-based cancer therapy. Non-coding RNA. 2017;2(2)83-87.

50. Lanzillotti C, Mattei M, Mazziotta C, Taraballi F, Rotondo J C, Tognon M, Martini F. Long Non-coding RNAs and MicroRNAs Interplay in Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. Front. Cell Dev. Biol. 2021;9:646032.

51. Puppo M, Taipaleenmäki H, Hesse E, Clézardin P. Non-coding RNAs in bone remodelling and bone metastasis: Mechanisms of action and translational relevance. Br J Pharmacol. 2021;178(9):1936-1954.

52. Inamura K. Major Tumor Suppressor and Oncogenic Non-Coding RNAs: Clinical Relevance in Lung Cancer. Cells. 2017 May 9;6(2):12.

53. Ko N Y, Chen L R, Chen K H. The Role of Micro RNA and Long-Non-Coding RNA in Osteoporosis. Int. J. Mol. Sci. 2020;21(14),4886.

54. Han W, Shi J, Cao J, Dong B, Guan W. Latest Advances of Long Non-Coding RNA SNHG5 in Human Cancers. Review Onco Targets Ther. 2020;13:6393-6403.

55. Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Comparative Study Cell. 1993;75(5):843-54.

56. Iaquinta M R, Lanzillotti C, Mazziotta C, Bononi I, Frontini F, Mazzoni E. The role of microRNAs in the osteogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and bone pathologies. Theranostics. 2021;11(13):6573–6591.

57. Huang J, Zhao L, Xing L, Chen D. MicroRNA-204 regulates RUNX2 protein expression and mesenchymal progenitor cell differentiation. Stem Cells. 2010;28:357–364.

58. Zhang Y, Xie R L, Croce C M, Stein J L, Lian J B, van Wijnen A J, Stein G S. A program of microRNAs controls osteogenic lineage progression by targeting transcription factor RUNX2.Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 2011;108:9863–9868.

59. Hu R, Liu W, Li H, Yang L, Chen C, Xia Z Y, et al. A RUNX2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation. J. Biol. Chem. 2011;286:12328–12339.

60. Silva A M, Moura S R, Teixeira J H, Barbosa M A, Santos S G, Inês M. Long noncoding RNAs: a missing link in osteoporosis. Bone Res. 2019;7:10.

61. Hassan M Q, Gordon J A, Beloti M M, Croce C M, van Wijnen A J, Stein J L, et al. A network connecting RUNX2, SATB2, and the miR-23a~27a~24–2 cluster regulates the osteoblast differentiation program. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010;107:19879–19884.

62. Wei B, Wei W, Zhao B, Guo X, Liu S. Long non-coding RNA HOTAIR inhibits miR-17-5p to regulate osteogenic differentiation and proliferation in non-traumatic osteonecrosis of femoral head. United States Plos ONE. 2017;12(2).

63. Wang Q, Li Y, Zhang Y, Ma L, Lin L, Meng J, et al. LncRNA MEG3 inhibited osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from postmenopausal osteoporosis by targeting miR-133a-3p. Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother. 2017;89:1178–1186.

64. Cai W L, Zeng W, Liu H.-H, Zhu B Y, Liu J L, Liu Y. LncRNA LINC00707 promotes osteogenic differentiation of hBMSCs through the Wnt/β-catenin pathway activated by LINC00707/miR-145/LRP5 axis. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2017;(24):18–28.

65. Jiang X R, Guo N, Li X Q, Yang H Y, Wang K, Zhang C L, et al. Long non-coding RNA HULC promotes proliferation and osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells via down-regulation of miR-195. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2018;22:2954–2965.

66. Gao Y, Xiao F, Wang C, Wang C, Cui P, Zhang X, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes osterix expression to regulate osteogenic differentiation by targeting miRNA-143 in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. J. Cell. Biochem. 2018;119:6986–6996.

67. Wang K, Wang Y, Hu Z, Zhang L, Li G, Dang L, Tan Y, Cao X, Shi F, Zhang S. Bone-Targeted LncRNA OGRU Alleviates Unloading-Induced Bone Loss via MiR-320-3p/Hoxa10 Axis. Cell Death Dis. 2020;11(382).

68. Wang H, Zhao W, Tian Q J, Xin L, Cui M, Li Y K. Effect of LncRNA AK023948 on Rats with Postmenopausal Osteoporosis via PI3K/AKT Signaling Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2020;24:2181–2188.

69. Cao L, Liu W, Zhong Y, Zhang Y, Gao D, He T, Liu et al. Linc02349 Promotes Osteogenesis of Human Umbilical Cord-Derived Stem Cells by Acting as a Competing Endogenous RNA for MiR-25-3p and MiR-33b-5p. Cell Prolif. 2020;53(5).

70. Chen L, Xiong Y, Yan C, Zhou W, Endo Y, Xue H, Hu Y, Hu L, Leng X, Liu J. LncRNA KCNQ1OT1 Accelerates Fracture Healing via Modulating MiR-701-3p/FGFR3 Axis. FASEB J. 2020;34:5208–5222.

71. Wang C G, Liao Z, Xiao H, Liu H, Hu Y H, Liao Q D, Zhong D. LncRNA KCNQ1OT1 Promoted BMP2 Expression to Regulate Osteogenic Differentiation by Sponging MiRNA-214. Exp. Mol. Pathol. 2019:107:77–84.

72. Li L, Fang J, Liu Y, Xiao L. LncRNA LOC100506178 Promotes Osteogenic Differentiation via Regulating MiR-214-5p-BMP2 Axis in Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. PeerJ. 2020;8:e8909.

73. Jia B, Wang Z, Sun X, Chen J, Zhao J, Qiu X. Long Noncoding RNA LINC00707 Sponges MiR-370-3p to Promote Osteogenesis of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells through Upregulating WNT2B. Stem Cell Res. Ther. 2019;10;(67).

74. Liu S C, Sun Q Z, Qiao X F, Li X G, Yang J H, Wang T Q, Xiao Y J, Qiao J M. LncRNA TUG1 Influences Osteoblast Proliferation and Differentiation through the Wnt/β-Catenin Signaling Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:4584–4590.

75. Wang X, Zhao D, Zhu Y, Dong Y, Liu Y. Long Non-Coding RNA GAS5 Promotes Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells by Regulating the MiR-135a-5p/FOXO1 Pathway. Mol. Cell. Endocrinol. 2019;496(110534).

76. Yi J, Liu D, Xiao, J. LncRNA MALAT1 Sponges MiR-30 to Promote Osteoblast Differentiation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells by Promotion of Runx2 Expression. Cell Tissue Res. 2019;376:113–121.

77. Li Z, Yan M, Yu Y, Wang Y, Lei G, Pan Y, et al. LncRNA H19 promotes the committed differentiation of stem cells from apical papilla via miR-141/SPAG9 pathway. Cell Death Dis. 2019;10(2):130.

78. Wu Y, Jiang Y, Liu Q, Liu C Z. LncRNA H19 Promotes Matrix Mineralization through Up-Regulating IGF1 by Sponging MiR-185-5p in Osteoblasts. BMC Mol. Cell Biol. 2019;20(48).

79. Chen X, Yang L, Ge D, Wang W, Yin Z, Yan J, Cao X, Jiang C, Zheng S, Liang B. Long Non-Coding RNA XIST Promotes Osteoporosis through Inhibiting Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Differentiation. Exp. Ther. Med. 2019;17:803–811.

80. Shen J J, Zhang C H, Chen Z W, Wang Z X, Yang D C, Zhang F L, Feng K H. LncRNA HOTAIR Inhibited Osteogenic Differentiation of BMSCs by Regulating Wnt/β-Catenin Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:7232–7246

81. Yin C, Tian Y, Yu Y, Li D, Miao Z,Su P, Zhao Y, Wang X, Pei J, Zhang K. Long Noncoding RNA AK039312 and AK079370 Inhibits Bone Formation via MiR-199b-5p. Pharmacological Research. 2021;163(105230).

82. Jiang S Y, Miao Y X, Hirokazu T, Zhu S Z, Lu J S. Effects of LncRNA DANCR on Proliferation and Differentiation of Osteoblasts by Regulating the Wnt/β-Catenin Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:5558–5566.

83. Li D, Tian Y, Yin C,Huai Y, Zhao Y,Su P, Wang X, et al. Silencing of LncRNA AK045490 Promotes Osteoblast Differentiation and Bone Formation via β-Catenin/TCF1/Runx2 Signaling Axis. Int J. Mol. Sci. 2019;20(24):6229.

84. Li X G, Liu S C, Qiao X F, Kong Y, Liu J G, Peng X M, et al. Abdulkarim Mohammed Al-Mohana, R.A. LncRNA MEG3 Promotes Proliferation and Differentiation of Osteoblasts through Wnt/β-Catenin Signaling Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:4521–4529.

85. Xiaoling G, Shuaibin L, Kailu L. MicroRNA-19b-3p Promotes Cell Proliferation and Osteogenic Differentiation of BMSCs by Interacting with LncRNA H19. BMC Med. Genet. 2020;21(11).

86. Cui Y, Fu S, Sun D, Xing J, Hou T, Wu X. EPC-Derived Exosomes Promote Osteoclastogenesis through LncRNA-MALAT1. J. Cell. Mol. Med. 2019;23:3843–3854.

87. Zhang Y, Chen X F, Li J, He F, Li X, Guo Y. LncRNA Neat1 Stimulates Osteoclastogenesis Via Sponging MiR-7. J. Bone Miner. Res. 2020;35:1772–1781.

88. Ling L, Hu H L, Liu K Y, Ram Y I, Gao J L, Cao Y M. Long Noncoding RNA MIRG Induces Osteoclastogenesis and Bone Resorption in Osteoporosis through Negative Regulation of MiR-1897. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:10195–10203.

89. Du Y J, Yu Q Q, Zheng X F, Wang S P. LncRNA TUG1 Positively Regulates Osteoclast Differentiation by Targeting V-Maf Musculoaponeurotic Fibrosarcoma Oncogene Homolog B. Autoimmunity. 2020;53:443-449.

90. Chen R S, Zhang X B, Zhu X T, Wang C S. LncRNA Bmncr Alleviates the Progression of Osteoporosis by Inhibiting RANML-Induced Osteoclast Differentiation. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:9199–9206.

91. Nigro J M, Cho K R, Fearon E R, Kern S E, Ruppert J M, Oliner J D, Scrambled exons. Cell. 1991;64(3):607-13.

92. Silva A M, Moura S R, Teixeira J H, Barbosa M A, Santos S G, Inês M. Long noncoding RNAs: a missing link in osteoporosis. Bone Res. 2019;7:10.

93. Yang Y, Yujiao W, Fang W, Linhui Y, Ziqi G, Zhichen W, Zirui W, Shengwang W.The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the development of osteoporosis. Biol Res. 2020;16;53(1):40.

94. Ouyang Z, Tan T, Zhang X, Wan J, Zhou Y, Jiang G, Yang D et al. CircRNA hsa_circ_0074834 promotes the osteogenesis-angiogenesis coupling process in bone mesenchymal stem cells (BMSCs) by acting as a ceRNA for miR-942-5p. Cell Death Dis. 2019;10(12):932

95. Huang, X, Cen, X, Zhang, B, Liao, Y, Zhao, Z, Zhu, G, et al. The roles of circRFWD2 and circINO80 during NELL-1-induced osteogenesis. J Cell MoI Med. 2019;23(12):8432-8441.

96. Wen J, Guan Z, Yu B, Guo J, Shi Y, Hu L. Circular RNA hsa_circ_0076906 competes with OGN for miR-1305 biding site to alleviate the progression of osteoporosis. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2020;122:105719

97. Qiao L, Li CG, Liu D. CircRNA_0048211 protects postmenopausal osteoporosis through targeting miRNA-93-5p to regulate BMP2. Eur Rev Med. Pharmacol. Sci.2020;24:3459–3466.

98. Chen, X., Ouyang, Z., Shen, Y., Liu, B., Zhang, Q., Wan, L., et al. CircRNA_28313/miR-195a/CSF1 axis modulates osteoclast differentiation to affect OVX-induced bone absorption in mice. RNA BíoI. 2019;16(9):1249-1262.

99. Wu, J., Ren, W., Zheng, Z., Huang, Z., Liang, T., Li, F., et al. Mmu_circ_003795 regulates osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 and MDPC23 by targeting COL15A1. Molecular MedicineReports. 2020;22:1737-1746

100. Patil S, Dang K, Zhao X, Gao Y, Qian A. Role of LncRNAs and CircRNAs in Bone Metabolism and Osteoporosis. Front. Genet. 2020;11:584118.

101. Song W, Xie J, Li J, Bao C, Xiao Y. The Emerging Roles of Long Noncoding RNAs in Bone Homeostasis and Their Potential Application in Bone-Related Diseases. 2020;39(6):926-937.

102. Liu S, Huang H, Chai S, Wei H, Huang J, Wan L. Expression profile analysis of long noncoding RNA in skeletal muscle of osteoporosis by microarray and bioinformatics. 2019;13:50.

103. Yuan FL, Xu MH, Li X, Xinlong H, Fang W, Dong J. The roles of acidosis in osteoclast biology. Front Physiol. 2016;7:222.

104. Li X, Ye JX, Xu MH, Zhao MD, Yuan FL. Evidence that activation of ASIC1a by acidosis increases osteoclast migration and adhesion by modulating integrin/Pyk2/Src signaling pathway. Osteoporos Int. 2017;28:2221–31.

105. Fu M,.Huang G, Zhang Z, Liu J, Zhang Z, Huang Z, et al. Expression profile of long noncoding RNAs in cartilage from knee osteoarthritis patients. Osteoarthritis and cartilage. 2015;23(3):423-432.

106. Wang J, Yan S, Yang J, Lu H, Xu D, Wang. Non-coding RNAs in Rheumatoid Arthritis. Bench to Bedside. Frontiers in immunology. 2020;10:3129.

107. Davis 3rd J M, Matteson E L, My treatment approach to rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology; European League Against Rheumatism. Mayo Clin Proc. 2012;87(7):659-73.

108. Chen R, Wang G, Zheng Y, Hua Y, Cai Z. Long non-coding RNAs in osteosarcoma.2017;8(12):2046220475.

109. Bousquet M, Noirot C, Accadbled F, Sales de Gauzy J, Castex MP, Brousset P, Gomez-Brouchet A. Whole-exome sequencing in osteosarcoma reveals important heterogeneity of genetic alterations. Ann Oncol. 2016;27:738–44.

110. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. International osteosarcoma incidence patterns in children and adolescents, middleages and elderly persons. Int J Cancer. 2009;125:229–34.

111. Miller BJ, Cram P, Lynch CF, Buckwalter JA. Risk factors for metastatic disease at presentation with osteosarcoma: an analysis of the SEER database. J Bone Joint Surg Am. 2013;95(e89):1–8.

112. Butova R, Vychytilova-Faltejskova P, Souckova A, Sevcikova S, Hajek R. Long Non-Coding RNAs in Multiple Myeloma. 2019;5(1):13.

113. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet oncol. 2014;15:538-548.

114. Parsons C, Tayoun M., Benado B D., Ragusa G, Dorvil R F., Rourke E A, et al. The role of long noncoding RNAs in cancer metastasis. J Cancer metastasis. 2018;4:19.

115. Coleman R. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. Cancer Treat Rev. 2001;27(3):165-76.

116. Wu Q Y, Li X, Miao Z N, Ye J X, Wang B, Zhang F, Xu R S, et al. Long Non-coding RNAs: A New Regulatory Code for Osteoporosis. 2018;9:587.

117. Hassan MQ, Stein GS, Lian JB. Hassan MQ, CE, Stein GS, Lian JB. Non-coding RNAs: epigenetic regulators of bone development and homeostasis. 2015;81:746-756.

118. Asafo-Adjei TA, Chen AJ, Najarzadeh A, Puleo DA. Advances in controlled drug delivery for treatment of osteoporosis. Curr Osteoporos Rep. 2016;14:226–38.

119. Rajkumar S V, Kumar S. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. Mayo Clin Proc. 2016;91(1):101-19.

120. Hackl M, Heilmeier U, Weilner S, Grillari J. Circulating microRNAs as novel biomarkers for bone diseases – Complex signatures for multifactorial diseases? Mol Cell Endocrinol. 2016;432:83-95.

121. Li H, Wang Z, Fu Q, Zhang J. Plasma miRNA levels correlate with sensitivity to bone mineral density in postmenopausal osteoporosis patients. Biomarkers. 2014;19(7):553-6.

122. Mandourah A, Ranganath L, Barraclough R, Vinjamuri S,Van'T Hof, R, Hamill, S,et al. Circulating MicroRNAs as Potential Diagnostic Biomarkers for Osteoporosis. Sci. Rep. 2018;8:8421.

123. Li D, Yang C, Yin C, Zhao F, Chen Z, Tian Y, et al. LncRNA, Important Player in Bone Development and Disease. Journal Name: Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets Formerly Current Drug Targets - Immune, Endocrine & Metabolic Disorders. 2020;20(1):50-66.

124. Tong X, Gu P, Xu S, Lin X. Long Non-Coding RNA-DANCR in Human Circulating Monocytes: A Potential Biomarker Associated with Postmenopausal Osteoporosis. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2015;79:732–737.

125. Feng J, Wang J, Li C. LncRNA GAS5 Overexpression Alleviates the Development of Osteoporosis through Promoting Osteogenic Differentiation of MSCs via Targeting MicroRNA-498 to Regulate RUNX2. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:7757–7765.

126. Zheng S, Wang Y, Yang Y, Chen B, Wang C, Li R, et al. LncRNA MALAT1 Inhibits Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Osteoporosis Rats through MAPK Signaling Pathway. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2019;23:4609–46017.

127. Wang Q, Li Y, Zhang Y, Ma L, Lin L, Meng J,et al. LncRNA MEG3 Inhibited Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells from Postmenopausal Osteoporosis by Targeting MiR-133a-3p. Biomed. Pharmacother. 2017;89:1178–1186.

128. Sun H, Peng G, Wu H, Liu M, Mao G, Ning X, et al. Long non-coding RNA MEG3 is involved in osteogenic differentiation and bone diseases. Biomed. Rep. 2020;13:15–21.

129. Li M, Xie Z, Li J, Lin J, Zheng G, Liu W, Tang S, Cen S, Ye G, Li Z, et al. GAS5 protects against osteoporosis by targeting UPF1/SMAD7 axis in osteoblast differentiation. eLife. 2020;99:e590792020.

130. Zheng J, Guo H, Qin Y, Liu Z, Ding Z, Zhang L and Wang W: SNHG5/miR-582-5p/RUNX3 feedback loop regulates osteogenic differentiation and apoptosis of bone marrow mesenchymal stem cells. J Cell Physiol. 2020.

131. Feng, X, Lin, T, Liu, X, Yang, C, Yang, S, Fu, D. Long non-coding RNA BDNF-AS modulates osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. MoI. Cell Biochem. 2018;445:59–65.

132. Fei Q, Bai X, Lin J, Meng H, Yang Y, Guo A. Identification of aberrantly expressed long non-coding RNAs in postmenopausal osteoporosis. Int. J. Mol. Med. 2018;41:3537–3550.

133. Zhang, N, Hu, X, He, S, Ding, , Wang, F, Zhao, Y, et al. LncRNA MSC-AS1 promotes osteogenic differentiation and alleviates osteoporosis through sponging microRNA-140-5p to upregulate BMP2. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2019;519:790–796.

134. Yang L, Li Y, Gong R, Gao M, Feng C, Liu T, Sun Y, Jin M et al. The Long Non-coding RNA-ORLNC1 Regulates Bone Mass by Directing Mesenchymal Stem Cell Fate Mol Ther. 2019;27(2): 394-410

135. Qiu M, Zhai S, Fu Q and Liu D: Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomal MicroRNA-150-3p promotes osteoblast proliferation and differentiation in osteoporosis. Hum Gene Ther.2021;32:717–729.

136. Ma J, Lin X, Chen C, Li S, Zhang S, Chen Z, Li D, Zhao F, Yang C, Yin C, et al: Circulating miR-181c-5p and miR-497-5p are potential biomarkers for prognosis and diagnosis of osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab. 105:dgz3002020.

137. Gu Z, Xie D, Huang C, Ding R, Zhang R, Li Q, Lin C and Qiu Y: MicroRNA-497 elevation or LRG1 knockdown promotes osteoblast proliferation and collagen synthesis in osteoporosis via TGF-beta1/Smads signalling pathway. J Cell Mol Med. 24:12619–12632. 2020.

138. Zhang Y, Chen B, Li D, Zhou X, Chen Z. LncRNA NEAT1/miR-29b-3p/BMP1 axis promotes osteogenic differentiation in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Pathol Res Pract. 2019;215(3):525-531.

139. Li M, Cong R, Yang L, Yang L, Zhang Y, Fu Q. A novel lncRNA LNC_000052 leads to the dysfunction of osteoporotic BMSCs via the miR-96-5p-PIK3R1 axis. Cell Death & Disease. 2020;11:795.

140. Yin C, Tian Y, Yu Y, Li D, Miao Z, Su P, Zhao Y,et al. Long noncoding RNA AK039312 and AK079370 inhibits bone formation via miR-199b-5p. Pharmacol Res.2021;163:1052302021.

141. Wang CG, Hu YH, Su SL, Zhong D. lncRNA DANCR and miR-320a suppressed osteogenic differentiation in osteoporosis by directly inhibiting the Wnt/β-catenin signaling pathway. Exp Mol Med. 2020;52:1310–1325.

142. Zheng, J., Huang, Y., Li, Y., Lai, J., Chen, C., Yi, C., et al. lncRNA-TINCR Functions as a Competitive Endogenous RNA to Regulate the Migration of Mesenchymal Stem Cells by Sponging miR-761. Biomed Res Int. 2020;2020: 9578730.

143. Airong Qian, Ye Tian. Noncoding RNAs and Bone. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2021. https://doi.org/10.1007/978-981-16-2402-5.

Παράρτημα

Συντομογραφίες και ακρωνύμια

AD Λιποκύτταρα

ALP Αλκαλική φωσφατάση

ASCT Αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων

ASO Αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια

BGP Οστεοκαλσίνη

BM Μυελός των οστών

BMD Οστική πυκνότητα

BMI Δείκτης μάζας σώματος

B-MSC Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από οστά

BM-MSC Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τον μυελό των οστών

BMP Μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών

BMPR2 Μορφογενετικός υποδοχέας πρωτεΐνης οστού τύπου II

Ca Ασβέστιο

ceRNAs Ανταγωνιστικά ενδογενή RNA

CircRNA Κυκλικά RNA

Colla 1 Κολλαγόνο τύπου 1

CT Καλσιτονίνη

ECM Εξωκυττάρια μήτρα των οστών

ER Οιστρογόνων

eRNAs Ενισχυτής ενεργοποιητής γονιδίων

ESCs Εμβρυικά βλαστικά κύτταρα

FAK Κινάση εστιακής προσκόλλησης

FDA Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών

FGFs Παράγοντες ανάπτυξης ινοβλαστών

IGF-1 Αυξητικός παράγοντας της ινσουλίνης 1

IL Ιντερλευκίνη

iPSCs Επαγόμενα βλαστικά κύτταρα

K Πρωτεολυτικό ένζυμο καθεψίνη

Long Non-Coding RNA μακρά μη κωδικά RNA

LRP Πρωτεΐνη που σχετίζεται με υποδοχείς λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας

M-CSF Παράγοντας διέγερσης αποικίας μακροφάγων

MicroRNA Μικρά ή κοντά μη κωδικά RNA

MM Πολλαπλό μυέλωμα

MSC Μεσεγχυματικό βλαστικό κύτταρο

NGS Αλληλούχιση νέας γενιάς

Non-Coding RNA μη κωδικά RNA

NFATc1 Πυρηνικός παράγοντας ενεργοποιημένων Τ κυττάρων c1

NF-κB Ενεργοποιητής υποδοχέα πυρηνικού παράγοντα κάππα Β

OA Οστεοαρθρίτιδα

ONFH Οστεονέκρωση της κεφαλής του μηριαίου οστού

OP Οστεοπόρωση

OPG Οστεοπροτεγερίνη

ORFs Ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης

OPN Οστεοποντίνη

OS Οστεοσάρκωμα

OVX Ωοθηκεκτομή

Pi Φωσφόρος

PRL Προλακτίνη

PTH Παραθυρεοειδής ορμόνη (παραθορμόνη)

PTHrP Πεπτίδιο που σχετίζεται με την παραθυρεοειδή ορμόνη

RA Ρευματοειδής αρθρίτιδα

RANK Ενεργοποιητής του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα kB

RANKL Συνδέτης RANK

RUNX2 Μεταγραφικός παράγοντας για την οστεοβλαστική διαφοροποίηση

TGF-β Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας-βήτα

TNF Παράγοντας νέκρωσης των όγκων

TOPβ1 Μετασχηματισμός του αυξητικού παράγοντα β1

VEGF Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας

WNT WNT οδός σηματοδότησης