
IDENTIFIKACIJA MARKERA ZA OSTEOPOROZU - MOLEKULARNA DILEMA

Lovorka Grgurević^{1,2}, Ruđer Novak²

¹Katedra za anatomiju i kliničku anatomiju, Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

²Centar za translacijska i klinička istraživanja, Odjel za proteomiku, Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

Osteoporoza je sistemska koštana metabolička bolest koja se razvija poremećajem homeostaze koštanog metabolizma, a karakterizira ju niska koštana masa i mikrooštećenja koja s vremenom dovode do povećane koštane lomljivosti. Pritom je gubitak koštanog tkiva asimptomatski pa je liječenje i otkrivanje bolesti otežano. Zbog toga bi idealno rješenje u prevenciji i praćenju ishoda terapije bilo otkriće i validacija krvnih markera za potvrdu osteopenije i osteoporoze.

Trenutno se u kliničkoj praksi koriste biomarkeri koštane pregradnje za određivanje N i C telopeptida i N terminalnog propeptida tip I prokolagena (P1NP), no na njihove koncentracije u krvi utječe mnogo faktora kao što su spol osobe, dnevne varijacije, unos hrane, te mnogobrojne krvne proteaze i enzimi. Upravo zbog toga smatra se da bi sveobuhvatna analiza proteomskih mreža, omogućila otkriće pouzdanih i osjetljivih biomarkera koštane pregradnje koji bi unaprijedili postojeće testove te dopunili radiološki pristup u dijagnostici osteoporoze. Proteomskim pristupom tako je analiziran proteomski profil mezenhimalnih stromalnih stanica (MSC) i osteoblasta te odvojeno osteoklasta. MSC su pokazale visoku ekspresiju kalmodulina i tropomiozina, proteina povezanih uz stanični ciklus i proliferaciju, dok su u osteoklastima zabilježeni poznati regulatori koštanog tkiva katepsin K, H-ATPaza, ali i do sada nepoznati poput gelsolina i arp2/3 koji imaju značajnu ulogu u sazrijevanju ovih stanica (1). Novija istraživanja uključuju komparativne proteomske analize mikrovezikula (egzosoma; exosome engl.) iz ljudskog seruma za evaluaciju osteoporoze. One se smatraju vitalnim prijenosnicima u staničnom okolišu koje su široko zastupljene u tjelesnim tekućinama, pa su stoga potencijalno važan novim alat u dijagnostici mnogobrojnih patoloških stanja. Novijim istraživanjima uspoređen je proteomski profil mikrovezikula u zdravih žena, žena s osteopenijom i osteoporozom (2). Pritom su u inicijalnoj identifikaciji odabrana tri proteinska kandidata: vinkulin i filamin A, kao važni regulatori osteoklasta, te profilin 1, ključan citokin koji regulira koštane morfogenetske proteine, odnosno njihov

učinak na osteoblaste. Profilin 1 također je validiran u neovisnom istraživanju koje je 22 23 pokazalo da se utvrđivanjem razlika u njegovoj ekspresiji mogu razlučiti osteoporotični od osteopeničnih pacijenata i zdrave populacije. Uz profilin, kvantitativnim proteomskim studijama u različitim stupnjevima osteoporoze pokazana je povezanost raznih proteina egzosoma plazme uz osteoporozu, kao što su proteasom 20S podjedinica beta 9 (PSMB9), poli(rC)-vezni protein 2 (PCBP2), V-imunoregulatorni receptor (VSIR) i alanil-tRNA sintetaza (AARS) (3).

Krvne stanice također su potencijalan izvor vrijednih informacija koje mogu olakšati ranu dijagnostiku osteoporotskih promjena. Tako je komparativnom proteomskom analizom cirkulirajućih monocita u premenopausalnih žena s niskim i visokim vrijednostima BMD (Bone mineral density, BMD) izdvojeno pet razlikovnih proteina. Ras supresor protein, gelsolin i superoksid dismutaza imali su povišenu ekspresiju, dok su glutation peroksidaza i prolil 4 hidrolaza b podjedinica bile snižene ekspresije u žena s nižim vrijednostima BMD. Sličnim pristupom povezanim uz promjene koštane gustoće, u cirkulirajućim monocitima, pronađeni su i proteini uključeni u proces apoptoze/preživljenja, migraciju/kemotaksiju, adheziju, trans-endotelijalnu migraciju, diferencijaciju u osteoklaste te druge procese povezane uz biosintezu histamina i oksidativni stres. Također, meta analizama proteoma monocita u žena potvrđena je povezanost niske BMD i smanjene indukcije apoptoze, što može dovesti do otkrića novih markera osteoporoze (4). MikroRNA, male nekodirajuće RNA (duge 19-25 nukleotida) uključene su u regulaciju genske ekspresije, tako što mijenjaju stabilnost mRNA ili utječu na njenu translaciju. Pokazano je da su vrijednosti miRNA133a i miR-422a povišene u serumu pacijenata s nižim BMD vrijednostima, što ukazuje na to da i one imaju potencijal postati biomarkeri ove bolesti (5).

Ljudska krv je lako dostupan i dragocjen izvor ključnih molekula u mehanizmu pojavljivanja i razvoja bolesti. Promjene u krvnim komponentama mogu se povezati uz dinamiku bolesti, a kao važni čimbenici u novije vrijeme uključeni su proteini mikro-vezikula. Proteomskim profiliranjem egzosoma plazme pacijenata s osteoporozom i osteopenijom, odnosno usporedbom sa zdravom populacijom, otvaraju se nove mogućnosti za identifikaciju proteinskih interakcija i metaboličkih mreža ključnih u razumijevanju patologije osteoporoze. Razumijevanje ovih procesa može značajno doprinijeti i razjasniti postojeće molekularne dileme u dijagnostici i identifikaciji novih dijagnostičko/terapijskih meta koštanog metabolizma.

Ključne riječi: osteoporoza, patofiziologija, biljezi koštane pregradnje, proteomika.

Literatura:

1. Zhang H, Recker R, Lee WNP, Xiao GG. Proteomics in bone research. *Expert Rev Proteomics*. 2010; 7: 103-11.
2. Chunhui H, Li Y, Qiao Z, Shang Z, Cao C, Hong Y i sur. Comparative proteomics analysis of microvesicles in human serum for the evaluation of osteoporosis. *Electrophoresis*. 2019; 40: 1839-47.
3. Ming C, Li Y, Lv H, Yin P, Zhang L, Tang P. Quantitative proteomics and reverse engineer analysis identified plasma exosome derived protein markers related to osteoporosis. *J Proteomics*. 2020; 228:103940.
4. Daswani B, Khatkhatay Ml. „Omics“ signatures in peripheral monocytes from women with low BMD condition. *J Osteoporos*. 2018;2018:8726456. doi: 10.1155/2018/8726456.
5. Donati S, Ciuffi S, Palmi G, Brandi ML. Circulating miRNAs: A new opportunity in bone fragility. *Biomolecules*. 2020; 10: 927.