

The biological basis of orthodontic tooth movement. New data in the era of “Molecular Dentistry”



D. Konstantonis¹

Orthodontic movement is achieved by means of bone resorption and formation as teeth respond to mechanical forces during treatment. The mechanisms leading to tissue differentiation thus inducing bone remodeling have been thoroughly investigated at a tissue and cellular level. Currently, in the rapidly developing era of Molecular Dentistry, the key role lies to the “mechanical signal transduction pathways” through which the biological phenomena are induced. The present study is a comprehensive review of contemporary theories on orthodontic tooth movement with particular emphasis on the cellular micro-biomechanics involved. The main mediators of mechanical stress to the alveolar bone are the cells of the periodontal ligament (PDL). The PDL consists of a heterogeneous cell population comprised by non-differentiated multipotent mesenchymal cells as well as fibroblasts. The periodontal fibroblasts have the capacity to differentiate into osteoblasts in response to various external mechanical stimuli. This feature of the PDL fibroblasts plays a ‘key’ role in the regeneration of the alveolar bone and the acceleration of orthodontic movement. Current research provides scientific data which elucidates the molecular response of the human PDL fibroblasts after mechanical stimulation. Integrins at focal adhesions function both as cell adhesion molecules and intracellular signal receptors. Upon stress application a series of biochemical responses expressed via signaling pathway cascades involve GTPases, MAPKs, transcription factors like AP1 and Runx2 stimulate DNA binding potential to specific genes leading thus to osteoblast differentiation. Consecutively, the activation of cytokines like RANKL and OPG regulates osteoclast activity while the role of inflammation has been recently given particular attention. Human genome decoding along with new data of Molecular Biology provide the long expected thrust to Biological Sciences. Orthodontics, depending on biotechnology is expected to receive a considerable impact.

Key words: orthodontic movement, bone remodeling, periodontal ligament, mechanical stimulation, signal transduction, transcription factor, osteoblast differentiation

Odontostomatological Progress 2013, 67 (3): 414-433

1. DDS, MS, Dr.Dent

Department of Orthodontics, School of Dentistry, National and Kapodistrian University of Athens, 2 Thivon Str., Goudi, 115 27 Athens

Η βιολογική βάση της ορθοδοντικής μετακίνησης. Νέα δεδομένα στην εποχή της «Μοριακής Οδοντιατρικής»



Δ. Κωνσταντώνης¹

Οι ορθοδοντικές μετακινήσεις οφείλονται στην ικανότητα του φατριακού οστού να αναδιαμορφώνεται καθώς τα δόντια αποκρίνονται στην ασκούμενη μηχανική δύναμη. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η ασκούμενη δύναμη οδηγεί τους ιστούς να διαφοροποιηθούν ώστε να προκύψει ο κύκλος της οστικής αναδόμησης/απορρόφησης είχε έως σήμερα διερευνηθεί σε ιστικό και κυτταρικό επίπεδο. Στη σημερινή εποχή της ταχέως εξελισσόμενης Μοριακής Οδοντιατρικής εξέχοντα ρόλο διαδραματίζουν οι μηχανισμοί μοριακής σηματοδότησης μέσω των οποίων επάγονται τα βιολογικά φαινόμενα. Ο σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η εκτενής ανασκόπηση των σύγχρονων θεωριών της ορθοδοντικής μετακίνησης με ιδιαίτερη έμφαση στο εμπλεκόμενο σύστημα κυτταρικής μικρο-εμβιομηχανικής. Οι κύριοι διαμεσολαβητές της μηχανικής τάσης στο φατριακό οστόν είναι τα κότταρα του περιρρίζου. Το περιρρίζιο αποτελείται από ένα ετερογενή κυτταρικό πληθυσμό που περιλαμβάνει μη διαφοροποιημένα πολυδύναμα μεσερχυματικά κότταρα, καθώς και ινοβλάστες. Οι ινοβλάστες έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες ως απόκριση σε διάφορα εξωτερικά μηχανικά ερεθίσματα. Αυτό το χαρακτηριστικό των ινοβλαστών παίζει ένα ρόλο-κλειδί στην αναγέννηση του φατριακού οστού και στην επιτάχυνση της ορθοδοντικής μετακίνησης.

Σύγχρονα επιστημονικά δεδομένα διευκρινίζουν τη μοριακή απόκριση των ανθρώπινων ινοβλαστών του ΠΔΣ στη μηχανική διέγερση. Στις εστίες προσκόλλησης οι ιντεγρίνες λειτουργούν τόσο ως μόρια προσκόλλησης κυττάρων όσο και ως ενδοκυτταρικοί υποδοχείς σήματος. Κατά την εφαρμογή τάσης μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων εκφράζονται μέσω σηματοδοτικών αλληλουχιών που περιλαμβάνουν GTPases, MAPKs, παράγοντες μεταγραφής όπως AP1 και Runx2, που προκαλούν διέγερση του δυναμικού πρόσδεσης του DNA και διαφοροποίηση προς οστεοβλαστικό φαινότυπο. Ακολούθως, η ενεργοποίηση των κυτοκινών, όπως RANKL και OPG, ρυθμίζει την οστεοκλαστική δραστηριότητα, ενώ ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί πρόσφατα στο ρόλο της φλεγμονής. Η αποκρυσταλλοποίηση του ανθρώπινου ρονιδιώματος σε συνδυασμό με τα νέα δεδομένα της Μοριακής Βιολογίας παρέχουν την από καιρού αναμενόμενη ώθηση στις Βιολογικές επιστήμες. Η Ορθοδοντική, εξαρτώμενη από τη βιοτεχνολογία, αναμένεται να επηρεαστεί σημαντικότερα.

Λέξεις ευρητηρίου: ορθοδοντική μετακίνηση, οστική αναδιαμόρφωση, περιρρίζιο, μηχανική διέγερση, μηχανική κυτταρική σηματοδότηση, μεταγραφικός παράγων, οστεοβλαστική διαφοροποίηση

Οδοντοστοματολογική Πρόοδος 2013, 67 (3): 414-433

1. Ορθοδοντικός

Εργαστήριο Ορθοδοντικής, Οδοντιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Θηβών 2, Γουδί, 115 27 Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ορθοδοντική μετακίνηση οφείλεται στην ικανότητα του φατνιακού οστού να αναδιαμορφώνεται. Οι πρώτες έρευνες σχετικά με τη μετακίνηση έγιναν σε επίπεδο ιστών από τον Stanstedt.¹ Οι θεωρίες της ορθοδοντικής μετακίνησης έχουν πλέον περάσει από το ιστικό και κυτταρικό στο μοριακό επίπεδο.

Ο von Meyer² και ο Wolff,³ πρωτοπόροι ερευνητές του 19ου αιώνα, διερεύνησαν τη συμβολή της μηχανικής διέγερσης στη διατήρηση της δομής και ακεραιότητας των οστών καθώς και την οστική ανταπόκριση στα μηχανικά ερεθίσματα. Ο σκελετός αναδιαμορφώνεται συνεχώς στη διάρκεια της ζωής μέσω των οστεοκλαστών που απορροφούν οστόν και των οστεοβλαστών που παράγουν νέο (εικ.1).⁴ Η απορρόφηση και παραγωγή οστού αποτελεί μια ενιαία διεργασία καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής κατά την οποία ο σκελετός ανανεώνεται διατηρώντας ταυτόχρονα τη δομική του ακεραιότητα.⁵ Εξαιτίας της μηδενικής βαρύτητας οι αστροναύτες χάνουν 1% οστικής μάζας κάθε εβδομάδα παραμονής στο διάστημα. Η οστική αναδιαμόρφωση ρυθμίζεται από ένα σύστημα ισορροπίας δύο τύπων κυττάρων, των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, και περιλαμβάνει ένα πολύπλοκο δίκτυο αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων και μεταξύ του εξωκυτταρίου στρώματος και των κυττάρων με την παρουσία ορμονών, κυτοκινών, παραγόντων ανάπτυξης και μηχανικής φόρτισης⁶ (εικ.2).

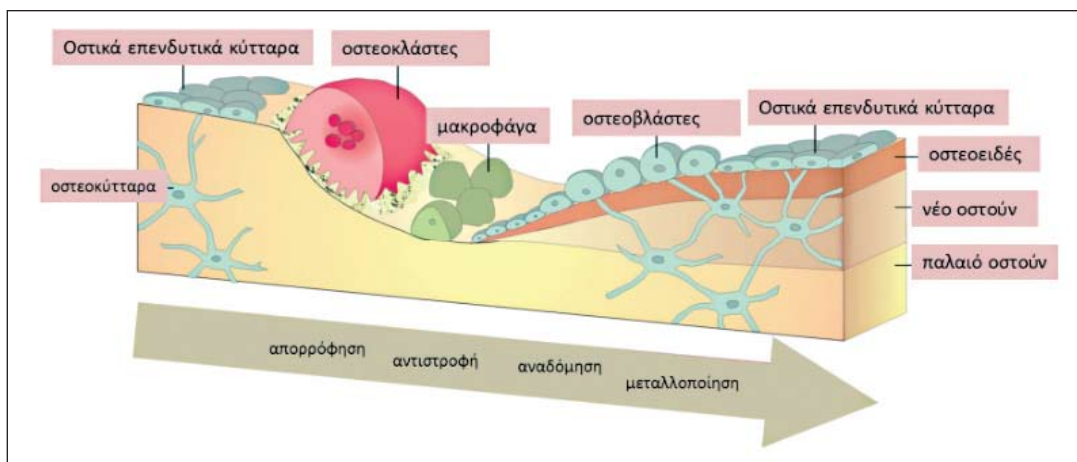
Η ορθοδοντική και η ορθοπεδική θεωρία και πράξη έχουν αρκετά κοινά. Η βιολογία της οστικής αναδιαμόρφωσης είναι αντικείμενο και των δύο ειδικοτήτων και απαιτεί κατανόηση του μηχανισμού της μηχανικής καταπόνησης και της ανταπόκρισης των διαφόρων τύπων κυττάρων που υπάρχουν μέσα και περίγυρω των οστών. Στην οδοντική μετακίνηση όμως εμπλέκεται ο ΠΔΣ, ο οποίος διαφέρει από το

οστόν ως προς τη σύνθεση και τις ιδιότητες αναδιαμόρφωσης. Κατά τις φυσιολογικές δραστηριότητες, όπως η μετακίνηση, ο σωματικός σκελετός υφίσταται περιοδική καταπόνηση. Τα φατνιακά οστόν υφίσταται παρόμοια περιοδική καταπόνηση κατά τη μάσηση, η οποία κατά την ορθοδοντική θεραπεία γίνεται συνεχής και έχει ως αποτέλεσμα την κάμψη του, την αναδιαμόρφωση και κατά συνέπεια την ορθοδοντική μετακίνηση. Όσον αφορά στον σωματικό σκελετό, ο μηχανισμός μεταξύ μηχανικής καταπόνησης και οστικής απορρόφησης δεν είναι απόλυτα κατανοητός, ενώ φαίνεται ότι η ίδια η καταπόνηση αποτελεί πρωταρχικά παράγοντα οστεογενετικής διέγερσης.^{7,8} Η οστεογενετική αντίδραση των οστών στην εξωτερική μηχανική καταπόνηση οφείλεται στην ενεργοποίηση των «ήρεμων» επενδυτικών κυττάρων^{9,10} του περιostίου και δεν εξαρτάται από πρωτότερη φάση οστικής απορρόφησης.¹¹ Αντιθέτως, το φατνιακό οστόν κατά την ορθοδοντική μετακίνηση υφίσταται τόσο απορρόφηση όσο και εναπόθεση, το μέγεθος της οποίας εξαρτάται από το μέγεθος, τη φορά και τη διάρκεια της εξασκούμενης δύναμης.

Οι κλινικοί ορθοδοντικοί εκμεταλλεύονται αυτό το καλά οργανωμένο σύστημα οστικής αναδιαμόρφωσης ασκούν τεχνοβιολογικές δυνάμεις επιτυγχάνοντας οδοντικές αλλά και σκελετικές μετακινήσεις.

ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΟΣΤΟΥ

Ενδιαφέροντα στοιχεία έχουν προκύψει την τελευταία δεκαετία από γενετικές μελέτες που έχουν γίνει σε πληθυσμούς και από πιστοποίηση των μελετών αυτών με κλινικές εικόνες. Οι BMPs (bone morphogenetic proteins), που είναι μια ομάδα αυξητικών παραγόντων, επίσης γνωστοί ως κυτοκίνες, επιδρούν στα αδιανομήτα μεσεγχευματικά κύτταρα επάγο-



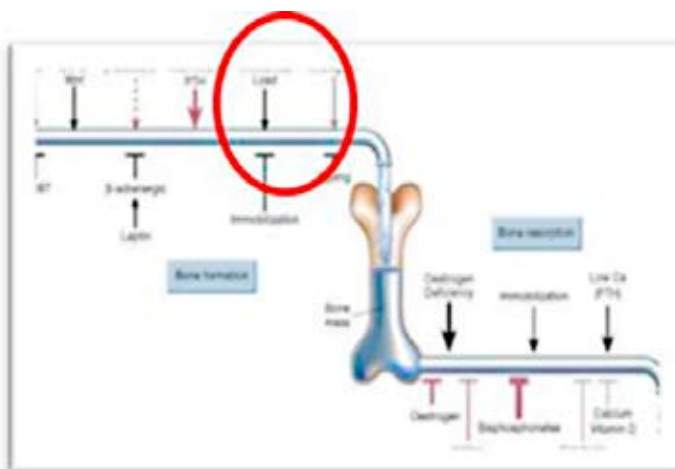
Εικόνα 1. Η συνεχής αναδιαμόρφωση είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας του οστού. <http://www.york.ac.uk/res/btr/Image%20Library/Bone%20remodelling.jpg>.

ντας την οστεογόνο κυτταρική σειρά και με τη διαμεσολάβηση αυξητικών και συστηματικών παραγόντων οδηγούν στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στην οστεοβλαστική και χονδροβλαστική διαφοροποίηση και επακόλουθα στην παραγωγή οστού και χόνδρου.

Οι οστεοβλάστες προέρχονται από μη αιμοποιητικά τμήματα του μυελού των οστών που περιέχει ομάδες ινοβλαστικών κυττάρων τα οποία έχουν δυνατότητες διαφοροποίησης σε οστικό τύπου κύτταρα που είναι γνωστά ως:

- Μεσεγχυματικά αρχέγονα κύτταρα (MSC: mesenchymal stem cells).
- Σκελετικά αρχέγονα κύτταρα (SSC: skeletal stem cells).
- Μεσεγχυματικά αρχέγονα κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών (BMSC: bone marrow stromal cells).
- Πολυδύναμα μεσεγχυματικά αρχέγονα κύτταρα (MMSC: multipotent mesenchymal stromal cells).

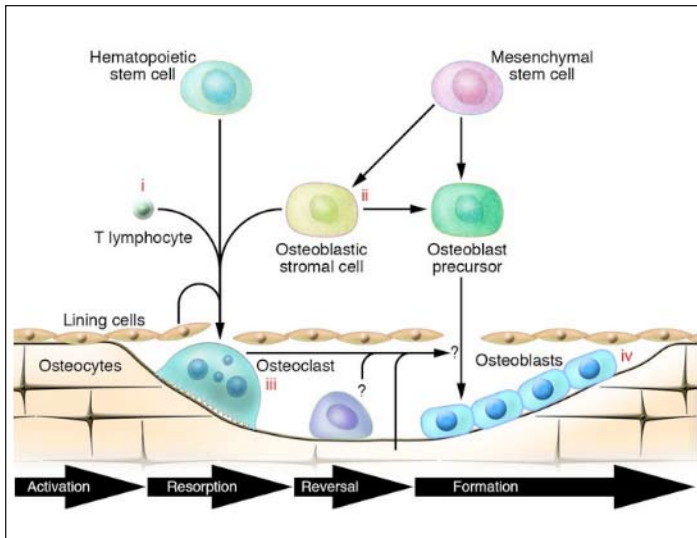
Ο σκελετός δεν είναι μια στατική δομή, αντιθέτως βρίσκεται υπό συνεχή αναδιαμόρφωση. Η δε φυσιολογία των οστών βρίσκεται σε άλλη χρονική κλίμακα από ό,τι άλλα όργανα - όπως η καρδιά ή οι πνεύμονες. Η BMU (Βασική Πολυκυτταρική Μονάδα -Basic Multicellular Unit) είναι μια περιπλανώμενη ομάδα κυττάρων που διαλύει μια περιοχή της



Εικόνα 2. Ομοιοστασία του οστού. Η οστική αναδιαμόρφωση είναι μια συνεχής ορμονοεξαρτώμενη διαδικασία με χαρακτηριστική απόκριση στη μηχανική διέγερση (τροποποιημένη από Harada and Rodan 2003⁶).

επιφάνειας του οστού και στη συνέχεια τη γεμίζει εναποθέτοντας νέο οστού¹² (εικ.3). Οι οστεοβλάστες είναι κυρίαρχα στοιχεία της βασικής σκελετικής ανατομικής δομής της BMU. Η BMU αποτελείται από:

- Κύτταρα που εναποθέτουν οστού (bone forming cells: osteoblasts, osteocytes and bone lining cells).
- Κύτταρα που απορροφούν οστού (bone resorbing cells: osteoclasts).
- Τα προγονικά τους κύτταρα (their precursor cells).
- Τα σχετιζόμενα με αυτά κύτταρα (their associated cells: endothelial, nerve cells).



Εικόνα 3. Βασική Πολυκυτταρική μονάδα (BMU) στην επιφάνεια δοκιδώδους οστού (από Krishnan και Davidovich 2009²).

Η εναπόθεση οστού γίνεται μέσω των οστεοβλαστών που παράγουν θεμέλια ουσία (κολλαγόνο) και δυο ακόμη μη κολλαγόνες: την οστεοκαλσίνη και την οστεονεκτίνη. Η ενεργοποίηση της οστικής απορρόφησης γίνεται από τους προ-οστεοκλάστες που διεγείρονται και διαφοροποιούνται κάτω από την επίδραση κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων σε ώριμους ενεργούς οστεοκλάστες. Οι οστεοκλάστες αποδομούν το παλαιό οστόν και επιφέρουν το τέλος της απορροφητικής διεργασίας.

Ο κύκλος της οστικής αναδόμησης ξεκινά με τη ρύθμιση της οστεοβλαστικής αύξησης και διαφοροποίησης και επιτελείται μέσω οστεογενετικών σηματοδοτικών μονοπατιών. Μια ιεραρχία διαδοχικής χρονικής έκφρασης μεταγραφικών παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή οστού. Η οστεοβλαστική διαφοροποίηση ξεκινά με τα αδιαφοροποίητα πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα που προοδευτικά διαφοροποιούνται σε ώριμους ενεργούς οστεοβλάστες, εκφράζοντας οστεοβλαστικά φαινοτυπικά γονίδια, και τερματίζεται με τη μετάπτωση στο στάδιο του οστεοκυττάρου μέσα στο οστικό στρώμα ή με τον κυτταρικό θάνατο για ένα κλάσμα οστεοβλαστών.

Οι παρακάτω τρεις οικογένειες αυξητικών παραγόντων επηρεάζουν την οστεοβλαστική δραστηριότητα:

- Μετασχηματίζων αυξητικός παράγων-β (TGF-β: transforming growth factor betas).
- Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγων (IGFs: insulin-like growth factors).
- Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs: bone morphogenetic proteins).

Οι αυξητικοί αυτοί παράγοντες δρουν κυρίως μέσω εξειδικευμένων ενδοκυτταρικών αλληλεπιδράσεων, μέσω αλληλεπιδράσεων με ορμόνες ή σε μεταγραφικούς παράγοντες. Επίσης, δρουν ως απάντηση μετά τη δράση γλυκοκορτικοειδών, της παραθυρεοειδούς ορμόνης, της προσταγλαδίνης, ορμονών του φύλου κ.ά. Οι BMPs διεγείρουν την παραγωγή οστού in vivo προάγοντας την έκφραση του Runx2 σε μεσεγχυματικά οστεοπρογενετικά και οστεοβλαστικά κύτταρα, και του Osterix σε οστεοβλαστικά κύτταρα. Ο TGF-β παίζει σημαντικό ρόλο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση προάγοντας το σχηματισμό οστού μέσω Runx2 και ταυτόχρονα ελαττώνοντας τα επίπεδα εκείνων των μεταγραφικών παραγόντων που προωθούν τα κύτταρα προς λιπογένεση.

Μεταγραφικοί παράγοντες που υπεισέρχονται στο μεταβολισμό του οστού και η απουσία ή η δυσλειτουργία των οποίων οδηγεί σε σοβαρή κλινική σημειολογία-σκελετική δυσμορφία είναι:

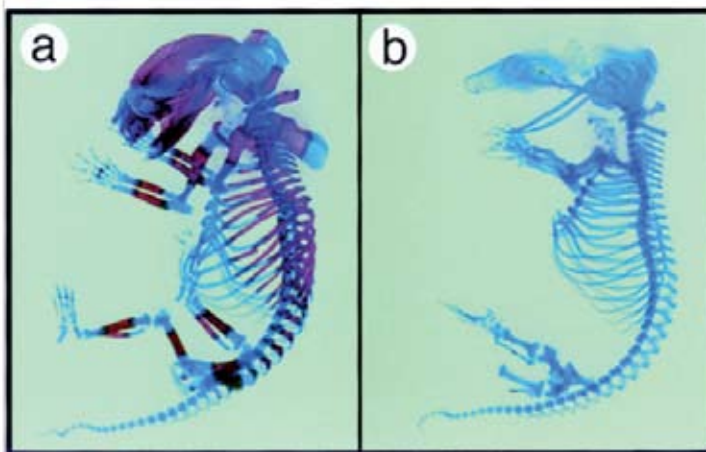
- PTHrP (παραθυρεοειδής ορμόνη και τα σχετικά πεπτίδια) - οι μεταλλάξεις προκαλούν θανατηφόρο χονδροπλασία.
- Sox5, Sox6, Sox 9 - οι μεταλλάξεις προκαλούν καμπομελική δυσπλασία.
- FGFR3 (fibroblast growth factor receptor) - οι μεταλλάξεις προκαλούν αχονδροπλασία.
- Runx2/3 (οι μεταλλάξεις προκαλούν κλειδοκρανική δυσπλασία).

Ο παράγοντας Runx είναι μέλος της οικογένειας Runx και αποτελείται από τρία γονίδια:

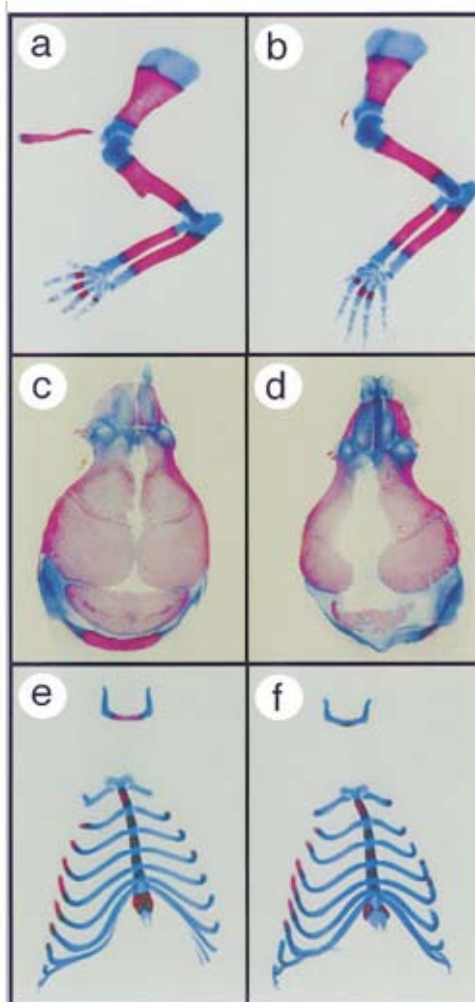
- Runx1 (Cbfa2/Pebp2aB/AML1).
- Runx2 (Cbfa1/Pebp2aA/AML3).
- Runx3 (Cbfa3/Pebp2aC/AML2).

Όλα τα γονίδια έχουν μια περιοχή πρόσδεσης στο DNA (DNA binding domain) που κωδικοποιεί πρωτεΐνες που σχηματίζουν ετερομερή με τον μεταγραφικό συν-ενεργοποιητή core binding factor β (Cbfb) / polyoma enhancer binding protein 2β (Pebp2β) in vitro. Θεωρείται αναγκαίος μεταγραφικός παράγοντας για οστική δόμηση και παραγωγή υπερτροφικού χόνδρου. Η έκφρασή του είναι απαραίτητη και αναγκαία για τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε κύτταρα οστεοπλαστικής σειράς. Απενεργοποίηση του γονιδίου σε διαγονιδιακούς επίμυες (Runx2^{-/-}) οδηγεί σε παντελή έλλειψη ενδομεμβρανικής και ενδοχονδρικής ασβεστοποίησης εξαιτίας έλλειψης ώριμων οστεοβλαστών¹³ (εικ.4,5). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα σε αυτά τα ζώα διατηρούν τη δυνατότητα περαιτέρω διαφοροποίησης σε λιποκύτταρα και χονδροκύτταρα. Στους ανθρώπους αποτελεί το κύριο γονίδιο του οποίου οι μεταλλάξεις εκφράζονται φαινοτυπικά στη γενετική ανωμαλία της κλειδοκρανιακής δυσπλασίας¹⁴ (εικ.6). Ο Runx2 αποκαλύφθηκε κατά τη διάρκεια ερευνών της ρύθμισης της οστεοκαλσίνης, του μόνου γονιδίου αποκλειστικά εκφραζόμενου σε οστεοβλάστες. Προσδένεται σε σύστοιχες θέσεις (osteoblast specific cis-element 2 - OSE2) που εδράζονται στην περιοχή του υποκινητή (promoter region) όλων των οστεοβλαστικών γονιδίων. Ο Runx2 εκφράζεται πολύ νωρίς στη διάρκεια της σκελετικής εξέλιξης, πρωτοεμφανίζεται σε μεσεγχυματικές συναθροίσεις σε περιοχές που προορίζονται για οστά. Εκφράζεται επίσης κατά τη μετεμβρυϊκή περίοδο κατά τη διάρκεια της οστικής δόμησης.

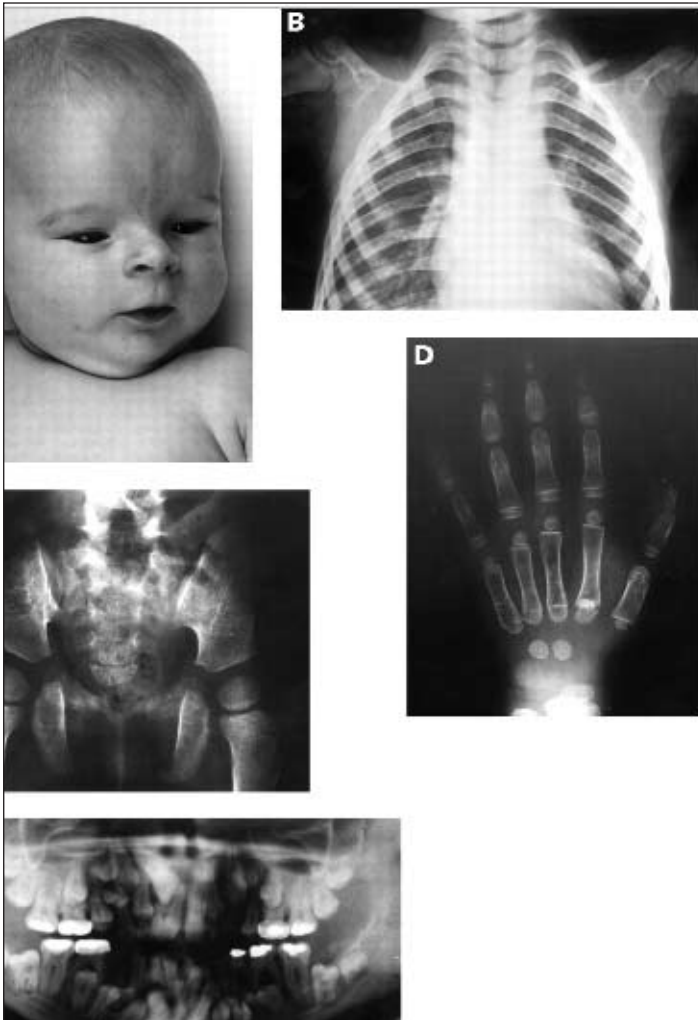
Άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες που



Εικόνα 4. Απενεργοποίηση του γονιδίου σε διαγονιδιακούς επίμυες (Runx2^{-/-}) οδηγεί σε παντελή έλλειψη ενδομεμβρανικής και ενδοχονδρικής ασβεστοποίησης (από Otto και συν. 1997¹³).



Εικόνα 5. Σκελετικός φαινότυπος νεογέννητων ετεροζυγωτικών μεταλλαγμένων (Runx2^{+/-}) επίμυων. Οι ετεροζυγωτικοί επίμυες (Runx2^{+/-}) παρουσιάζουν ιδιαίτερες σκελετικές ανωμαλίες οι οποίες χαρακτηρίζουν την κληρονομική ανωμαλία που στους ανθρώπους είναι γνωστή ως κλειδοκρανιακή δυσπλασία (από Otto και συν. 1997¹³).



Εικόνα 6. Τυπικά κλινικά και ακτινολογικά ευρήματα της κλειδοκρανιακής δυσπλασίας (από Mundlos 1999¹⁴).

ελέγχουν την οστεοβλαστογένεση είναι οι Osterix15 (Osx), β -catenin, ATF4 και DLX5. Συνεργάζονται κυρίως με τον Runx2 και οδηγούν τα πρόδρομα κύτταρα στην οστεοβλαστική σειρά. Σημαντικό ρόλο στη βιολογία του οστού παίζει και ο μεταγραφικός παράγοντας AP-1 (activator protein 1), τα κύρια συστατικά του οποίου είναι οι πρωτεΐνες c-Jun και c-Fos. Αυτές οι πρωτεΐνες αποτελούν παράγοντες-κλειδιά που σχετίζονται με τη δόμηση και αποδόμηση των οστών και υπεισέρχονται στον οστικό κύκλο^{15,16} (εικ.7).

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΡΘΟΔΟΝΤΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ

Η ενεργοποίηση πολλαπλών κυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών μέσω μηχανικής διέγερσης

Οι ιστολογικές και κυτταρικές μελέτες παρείχαν για πολλά χρόνια απαντήσεις σε θέματα απόκρισης των ιστών στις τεχνοβιολογικές δυνάμεις που ασκούνται κατά την ορθοδοντική μετακίνηση. Στη σημερινή εποχή κατέχει εξέχουσα θέση η μελέτη των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στη μηχανική διέγερση του ΠΔΣ μέσω των μηχανικών σηματοδοτικών μονοπατιών (mechanical signal transduction pathway)¹⁷ (εικ.8).

Η διερεύνηση αυτού του συστήματος του σηματοδοτικού μονοπατιού μέσω του οποίου προκαλούνται όλες οι απαραίτητες μοριακές αλλαγές που επιτρέπουν, εμποδίζουν ή επάγουν την οδοντική μετακίνηση ενδέχεται να επιτρέψει ευρεία κλινική εφαρμογή του στο μέλλον.

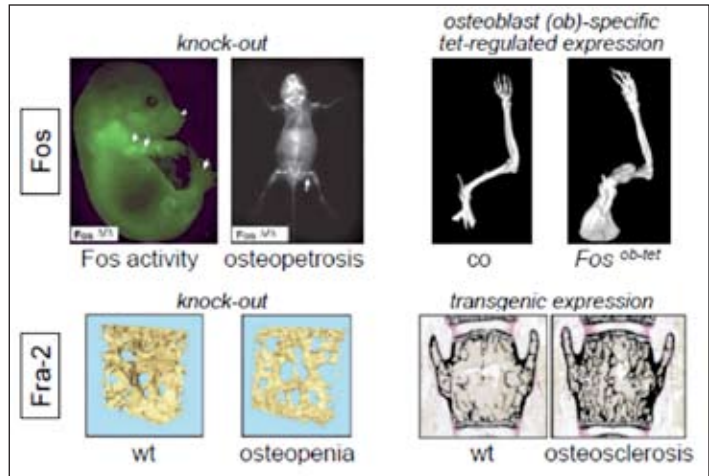
Διάφορα συστήματα κυτταρικών καλλιεργείων χρησιμοποιήθηκαν για να αναπαραστήσουν την εφαρμογή ορθοδοντικής δύναμης in vivo. Ένα από αυτά ήταν η καλλιέργεια ινοβλαστών σε υπόστρωμα κολλαγόνου που δύναται να εκταθεί ή η τοποθέτησή τους σε ευέλικτους πυθμένες δίσκων καλλιέργειας.¹⁸ Οι κυτταροκαλλιέργειες σε δίσκους Petri (petri dishes) με τέτοιους ευέλικτους, μεμβρανώδεις πυθμένες δύναται να εκταθούν κατά την τοποθέτησή τους πάνω σε κυρτή επιφάνεια. Η εφαρμοζόμενη έκταση ποικίλλει και ενδέχεται να είναι μεγαλύτερη στο κέντρο παρά στην περιφέρεια του δίσκου. Και τα δύο συστήματα παρέχουν στατική έκταση, ενώ ένα νεότερο «δυναμικό» μοντέλο έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει διαλείπουσα διέγερση των κυτταρικών καλλιεργείων.¹⁹

Τα πρώτα πειράματα που είχαν ως αντικείμενο την κυτταρική σηματοδότηση έδειξαν ότι

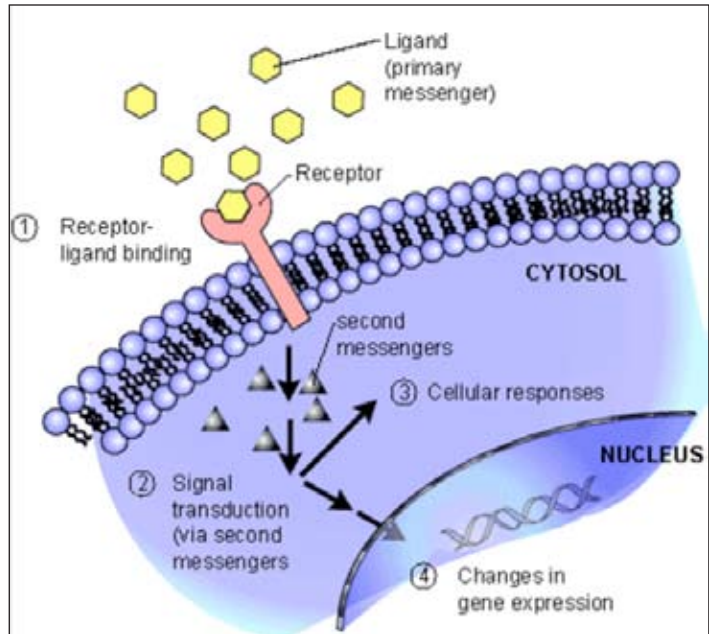
αποτέλεσμα της άμεσης απόκρισης των κυττάρων στη μηχανική καταπόνηση ήταν η παραγωγή προσταγλαδινών (PGs) και των δευτέρων αγγελιοφόρων 3',5' κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP)^{20,21} και φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης.²² Οι Davidson και συν.²³ καθώς και οι McDonald και συν.²⁴ διαπίστωσαν αλλαγές στο ενδοκυττάριο Ca²⁺ ύστερα ενεργοποίηση-διάταξη των διαύλων ιόντων.

Οι προσταγλαδίνες, τα λευκοτριένια και ο ρόλος τους στην ορθοδοντική μετακίνηση

Οι πρώτες ενδείξεις σχετικά με το ρόλο των προσταγλαδινών στη σηματοδότηση της μηχανικής διέγερσης προέκυψαν από την έρευνα των Hong και συν.²⁵ που παρατήρησαν ότι, όταν επιχειρούσαν διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης αποσπώντας κύτταρα από δίσκους καλλιέργειας, προκαλούνταν αύξηση στη σύνθεση των προσταγλαδινών (PGs). Οι ερευνητές συμπέραναν ότι πράξεις μηχανικής διέγερσης που αλλάζουν τη διαμόρφωση της κυτταρικής μεμβράνης εκθέτουν τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης στη δράση των φωσφολιπασών απελευθερώνοντας ελεύθερο αραχιδονικό οξύ. Αυτά και άλλα ευρήματα από έρευνες^{26,27} που έδειξαν ότι ύστερα από μηχανική καταπόνηση επέρχονται αλλαγές στα ενδοκυτταρικά νουκλεοτίδια ώθησαν τους Harell και συν.²⁰ σε μία μελέτη in vitro. Παραμόρφωσαν με ορθοδοντικές βίδες δίσκους Petri πάνω στους οποίους είχαν καλλιεργηθεί κύτταρα παρόμοια με οστεοβλάστες (osteoblast-like cells) και παρατήρησαν την εξής ακολουθία γεγονότων: (α) ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A2 με επακόλουθη απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος που προκάλεσε γρήγορη και τριπλάσια σύνθεση PGE2 στα 5 λεπτά, (β) αυτό με τη σειρά του ενεργοποίησε την αδενυλική κυκλάση και προκάλεσε μια παροδική αύξηση στο ενδοκυττάριο cAMP με κορύφωση στα 15 λεπτά, (γ) αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca²⁺ και δι-



Εικόνα 7. Τυπικά κλινικά και ακτινολογικά ευρήματα της κλειδοκρανιακής δυσπλασίας. Σε μεταλλαγμένους επίμνες με διαταραχή έκφρασης των πρωτεϊνών παρατηρείται είτε οστεοπενία και γιγα-ντιαίοι οστεοκλάστες είτε αυξημένη οστική μάζα και οστεοπέτρωση (από Bakiri και συν.¹⁶).



Εικόνα 8. Κυτταρική σηματοδότηση¹⁷.

έγερση σύνθεσης DNA. Η ικανότητα μίμησης ή αναστολής αυτών των αλλαγών από εξωγενή PG2 ή ινδομεθακίνη παρείχε περισσότερες αποδείξεις ότι η μεταγωγή της μηχανικής διέγερσης σε βιολογική απόκριση ρυθμίζεται από την παραγωγή PG.^{20,28}

Οι Yamasaki και συν.²⁹ έρευνησαν το ρόλο των PGs στην ορθοδοντική μετακίνηση χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο δοντιού αρου-

ραίου. Ανακάλυψαν ότι η ινδομεθακίνη παρήγε δοσοεξαρτώμενη αναστολή εμφάνισης των οστεοκλαστών και ότι η οστική απορρόφηση περιοριζόταν τις 12 πρώτες ώρες της οδοντικής μετακίνησης. Με αυτό τον τρόπο εξήγησαν τον αργό ρυθμό οδοντικής μετακίνησης σε ασθενείς που λαμβάνουν μεγάλες δόσεις μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAIDs). Περαιτέρω έρευνες των ίδιων ερευνητών έδειξαν ότι τοπικές ενέσεις PGs ενδέχεται να αυξήσουν το ρυθμό ορθοδοντικής μετακίνησης.^{30,31}

Ένα μοντέλο κονίκλου έδειξε ότι ο αναστολέας COX «φλουρβιπροφαίνη» μείωσε σημαντικά τον αριθμό των οστεοκλαστών, αλλά περιέργως όχι το ρυθμό οδοντικής μετακίνησης.³² Αυτή η παράδοξη παρατήρηση προτείνει ότι οι PGs από μόνες τους δεν έπαιξαν ρόλο στην οστική αναδιαμόρφωση κατά τη μετακίνηση των δοντιών. Τα λευκοτριένια (LTs) είναι φυσικά παραγόμενα εικοσανοειδή λιπίδια επίσης μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος (παραγόμενα όμως μέσω της οδού λιποξυγενάσης) που ενδέχεται να συμμετείχαν στη σημειωθείσα διαφορά, δεδομένου ότι είναι πιθανοί διεγέρτες της οστικής απορρόφησης.³³

ΤΟ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ «ΔΕΥΤΕΡΩΝ ΑΓΓΕΛΙΟΦΟΡΩΝ»

Η «υπόθεση των δεύτερων αγγελιοφόρων» ισχυρίζεται ότι τα «κύτταρα-στόχοι» αποκρίνονται στα εξωτερικά ερεθίσματα, χημικά ή φυσικά, μέσω ενζυματικής μετατροπής κάποιων μεμβρανικών και κυτταροπλασματικών μορίων σε παράγωγα ικανά να ενισχύσουν τη φωσφορύλιωση καταρακτών ενδοκυττάρων ενζύμων. Ως εκ τούτου, προσωρινή αύξηση στους ιστούς ή στις κυτταρικές συγκεντρώσεις «δεύτερων αγγελιοφόρων» θεωρείται ως ένδειξη ότι ένας εφαρμοζόμενος εξωκυττάριος «πρώτος αγγελιοφόρος», όπως μια ορθοδοντική δύναμη, έχει διεγείρει τα κύτταρα-στόχους.

Στην ορθοδοντική βιβλιογραφία ανευρίσκονται πολλαπλές αναφορές σχετικά με την αύξηση της συγκέντρωσης ενδοκυττάρων «δεύτερων αγγελιοφόρων» σε περιοδοντικούς ιστούς υπό την άσκηση μηχανικής δύναμης.^{22,26,27,34-38}

Η οδός του κυκλικού AMP

Το σύστημα των «δεύτερων αγγελιοφόρων» που κλασικά συνδέεται με τη μεταβίβαση μηχανικών σημάτων είναι το κυκλικό AMP. Οι Rodan και συν.²⁶ έδειξαν ότι η δύναμη συμπίεσης των 60g/cm² εφαρμοζόμενη σε κνήμη νεοσσών 16 ημερών, *in vitro*, ανέστειλε τη συσώρευση του cAMP στην επίφυση, καθώς και σε κύτταρα που απομονώνονται από την παραγωγική ζώνη της πλάκας ανάπτυξης. Η επίδραση αυτή διαμεσολαβείται από μια βελτιωμένη απορρόφηση του Ca²⁺ το οποίο ανέστειλε την ενεργότητα της αδενυλικής κυκλάσης.³⁴

Οι Davidovitch και συν.²⁷ συνέλεξαν φατνιακό οστόν από περιοχές πίεσης και τάσης γύρω από ορθοδοντικά αποκεκλιμένους κυνόδοντες γαλών. Η έρευνα έδειξε ότι αρχικά τα επίπεδα του cAMP μειώθηκαν, ενώ ύστερα από 1-2 ημέρες αυξήθηκαν και παρέμειναν αυξημένα για το υπόλοιπο της πειραματικής περιόδου των 28 ημερών. Σύμφωνα με τους ερευνητές, η αρχική μείωση στις περιοχές πίεσης οφείλεται στη νέκρωση του ΠΔΣ, και στις περιοχές τάσης σε μια ταχεία αύξηση του κυτταρικού πληθυσμού. Η άνοδος του cAMP που παρατηρήθηκε στις 2 εβδομάδες αντανάκλωσε την αυξημένη δραστηριότητα οστικής αναδιαμόρφωσης¹² (εικ.9,10).

Σε επόμενη έρευνά τους οι Davidovitch και συν.,³⁵ σχετικά με την κυτταρική εντόπιση του cAMP στο ίδιο μοντέλο, βρήκαν μια αύξηση του αριθμού των θετικών-cAMP κυττάρων σε περιοχές του ΠΔΣ, όπου στη συνέχεια έλαβε χώρα οστική απορρόφηση ή εναπόθεση. Τα οστεοκύτταρα στο παρακείμενο φατνιακό οστόν, ωστόσο, εμφανίστηκαν σχετικά ανεπηρέαστα από τη μηχανική δύναμη.

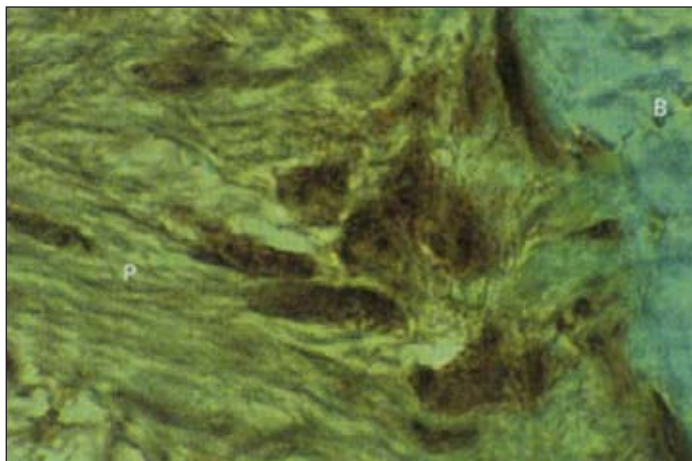
Η οδός των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης (PI)

Οι Streb και συν.³⁶ έδειξαν ότι τα προϊόντα διάσπασης των λιπιδίων της ινοσιτόλης προκάλεσαν απελευθέρωση ενδοκυττάριου Ca²⁺. Η οδός PI ευθύνεται για πολλές από τις αλλαγές που εμφανίζονται σε μηχανικά παραμορφώμενους ιστούς, όπως η αύξηση των ενδοκυττάρων [Ca²⁺] από το ενδοπλασματικό δίκτυο και η αυξημένη σύνθεση του DNA.

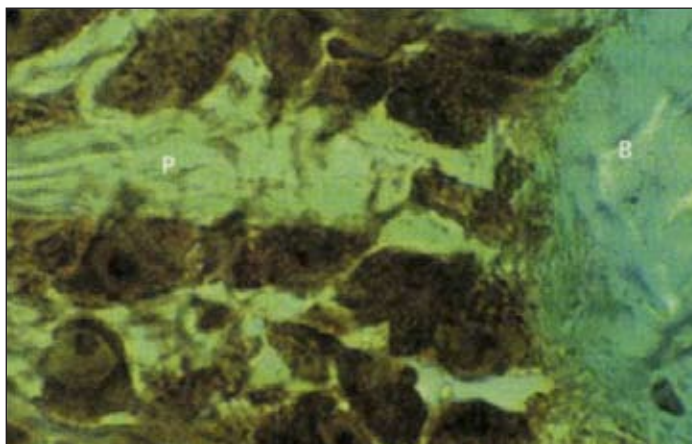
Η PGE₂ και η παραθορμόνη (PTH) αυξάνουν τη φωσφορική ινοσιτόλη καθώς και το cAMP σε καλλιέργειες οστεοβλαστών από κρανία επιμύων. Παρ' όλα αυτά η δράση της PTH στην κινητοποίηση της φωσφορικής ινοσιτόλης δεν ήταν άμεση αλλά ρυθμιζόμενη έμμεσα από την PGs με έναν αυτοκρινή/παρακρινή τρόπο.³⁷ Σύμφωνα με τους Sandy και συν.²² τόσο το cAMP όσο και η φωσφορική ινοσιτόλη αυξήθηκαν σε οστεοβλάστες επιμύων σε διαλείπουσα μηχανική διέγερση. Η ενεργοποίηση του cAMP και της φωσφορικής ινοσιτόλης από την PGE₂ έχει αποδειχθεί ότι επάγει την έκφραση μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο Erg-1 (Early growth response gene-1), καθώς και των πρωτο-ογκογονιδίων c-jun και c-fos. Αυτοί οι παράγοντες ενεργοποιούν ή καταστέλλουν τη μεταγραφή των late-acting genes που είναι απαραίτητα για να επιφέρουν φαινοτυπικές αλλαγές. Ο παράγοντας Erg-1 εμπλέκεται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και οι Dolce και συν.³⁸ έδειξαν ότι αυξάνεται στους οστεοβλάστες αρουραίων ύστερα από 15 λεπτά μηχανικής διέγερσης.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΙΝΤΕΓΡΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΣΤΙΩΝ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ

Τα παραπάνω μονοπάτια είναι γενικά σηματοδοτικά μονοπάτια και αποτελούν την κυτταρική απάντηση σε διάφορα εξωκυττάρια ερεθίσματα. Η διερεύνηση των ειδικών σημα-

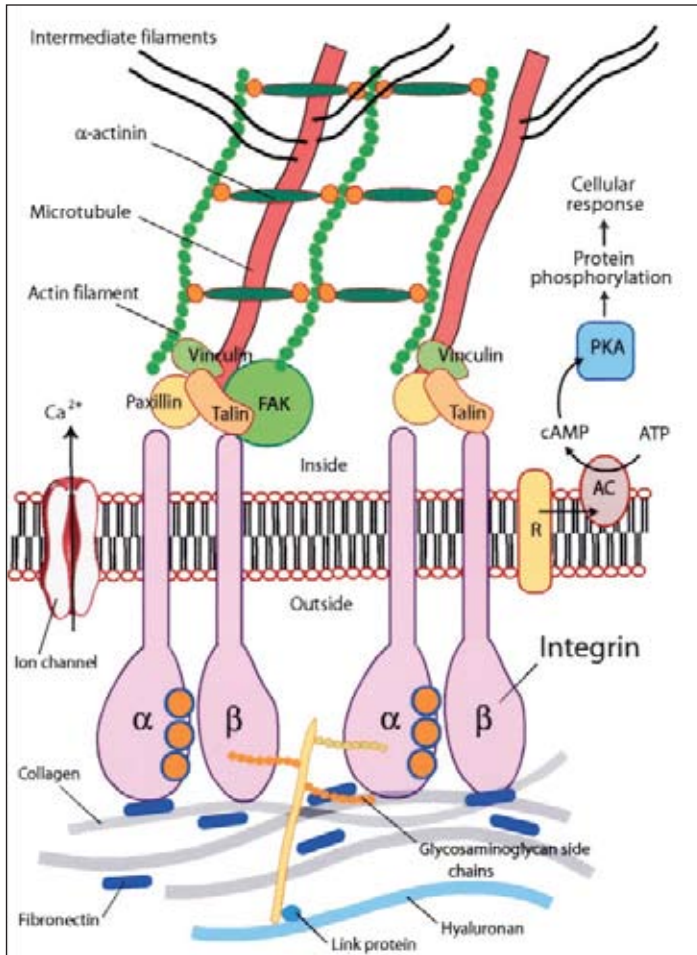


Εικόνα 9. Οριζόντια τομή -πάχους 6μm- άνω κυνόδοντα γαλής, ηλικίας 1 έτους. Στο δόντι δεν εφαρμόστηκε μηχανική δύναμη και χρησίμευσε ως μάρτυρας. Μετά από ανοσοϊστοχημική χρώση για cAMP τα επενδυτικά κύτταρα της επιφάνειας του φατνιακού οστού είναι επίπεδα ενώ αρκετά από τα όμορα κύτταρα του ΠΔΣ έχουν στρογγύλο σχήμα. B: φατνιακό οστό P: ΠΔΣ. X960 (από Krishnan και Davidovich 2009²²).



Εικόνα 10. Οριζόντια τομή -πάχους 6μm- άνω κυνόδοντα γαλής, ηλικίας 1 έτους. Στο δόντι εφαρμόστηκε μηχανική δύναμη τύπου απώθησης για 24 ώρες που προκάλεσε μετακίνηση τύπου απόκλισης. Είναι το ίδιο πειραματόζωο όπως στην εικόνα 25. Εδώ παρυσιάζεται η ζώνη τάσης του ΠΔΣ. Μετά από ανοσοϊστοχημική χρώση για cAMP παρατηρούμε ότι σε σύγκριση με το δόντι-μάρτυρα τόσο τα κύτταρα της επιφάνειας του φατνιακού οστού όσο και τα όμορα κύτταρα του ΠΔΣ είναι μεγαλύτερα και με εντονότερη χρώση για cAMP. B: φατνιακό οστό P: ΠΔΣ. X960 (από Krishnan και Davidovich 2009²²).

τοδοτικών μονοπατιών στα οστά, που ενεργοποιούνται μετά την άσκηση ειδικών φορτίων, έλκυσε το ενδιαφέρον των ερευνητών. Τα κύτταρα μέσα στους ιστούς και στις κυτταρικές καλλιέργειες δεν «επιπλέουν τριγύρω» αλλά



Εικόνα 11. Διάγραμμα των υποδοχέων ιντεγρίνης και των εστιών προσκόλλησης. Οι εστίες προσκόλλησης είναι σημεία στα οποία οι ιντεγρίνες συνδέουν τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες της ακτίνης (ταλίνη, βινκουλίνη, α-ακτινίνη) και σηματοδοτικά μόρια όπως τα FAK και παχυλίνη με τα δομικά μακρομόρια του εξωκυττάρου στρώματος. Ο σταθερός σύνδεσμος στις εστίες προσκόλλησης επιτρέπει την αναγνώριση της μηχανικής παραμόρφωσης των κυττάρων από 1) τον κυτταροσκελετό και τα ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια 2) τους μηχανοευαίσθητους διαύλους ιόντων, τα φωσφολιπίδια και τους υποδοχείς G-πρωτεΐνων στην κυτταρική μεμβράνη. AC: αδενυλική κυκλάση, FAK: κινάση σταθερής προσκόλλησης, PKA: πρωτεϊνική κινάση A, R: υποδοχείς G-πρωτεϊνών (από Meikle 2006⁴¹).

είναι συνδεδεμένα με το εξωκυττάριο στρώμα ή αντίστοιχα με το υπόστρωμά τους μέσω εξειδικευμένων σημείων κυτταρικής σύνδεσης που ονομάζονται εστίες προσκόλλησης (focal adhesions). Εξειδικευμένες πρωτεΐνες, οι ιντεγρίνες (integrins), συνδέουν το στρώμα που βρίσκεται στο εξωτερικό του κυττάρου

με τον κυτταροσκελετό.³⁹ Το κύτταρο προσδένεται στην ειδική θέση της ινωδονεκτίνης (fibronectin), μέσω της ιντεγρίνης, που αποτελεί πρωτεΐνη υποδοχέα η οποία διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη. Ενώ η εξωκυττάρια περιτοχή της ιντεγρίνης προσδένεται στην ινωδονεκτίνη, το άλλο άκρο του μορίου της ιντεγρίνης που βρίσκεται μέσα στο κύτταρο σχηματίζει θέση προσκόλλησης για τα νημάτια των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών ακτίνης (ταλίνη, βινκουλίνη, α-ακτινίνη, παχυλίνη) αλλά και για επιφάνειες άλλων κυττάρων πάνω στις οποίες έρπει το μετακινούμενο κύτταρο⁴⁰ (εικ.11)⁴¹. Οι ιντεγρίνες είναι στρατηγικά τοποθετημένες ώστε να μεσολαβούν στη μετάδοση των αμφίδρομων δυνάμεων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.³⁹ Όταν μεταξύ του κυττάρου και του στρώματος υπάρχει τάση, το μόριο της ιντεγρίνης τη μεταδίδει από το στρώμα στον κυτταροσκελετό αποφεύγοντας την αποκοπή του από τη μεμβράνη. Σε περίπτωση διακοπής αυτού του δεσμού προκαλούνται πολλαπλές κυτταρικές αποκρίσεις, όπως μετανάστευση, πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση.^{42,43} Κατά συνέπεια, οι ιντεγρίνες θεωρούνται μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και δέκτες ενδοκυτταρικών σημάτων. Είναι πλέον γνωστό ότι οι μηχανικές δυνάμεις που ασκούνται στα κύτταρα προκαλούν διατάραξη του δεσμού μεταξύ των κυττάρων ή μεταξύ του κυττάρου και του εξωκυττάρου στρώματος, ενεργώντας ως σήμα για περαιτέρω βιοχημικές αντιδράσεις στο κύτταρο.

Οι Shyy και συν.⁴⁴ ισχυρίστηκαν ότι οι ιντεγρίνες αποτελούν δέκτες μηχανικών σημάτων και ότι οι διεγερμένες ίνες είναι απαραίτητες για τη μετάδοση των ασκούμενων δυνάμεων. Σύμφωνα με τα σύγχρονα επιστημονικά δεδομένα, οι ιντεγρίνες στις εστίες προσκόλλησης είναι οι ρυθμιστές των αλλαγών στην κυτταρική σηματοδότηση ύστερα από μηχανική φόρτιση.

Σύμφωνα με τους Wilson και συν.⁴⁵ η παρα-

γωγική απάντηση των καλλιεργημένων αγγειακών λειών μυϊκών κυττάρων σε κυκλική μηχανική φόρτιση βρέθηκε να εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ ιντεγρινών και συγκεκριμένων πρωτεϊνών του στρώματος (κολλαγόνο, ινοδωνεκτίνη, βιτρονεκτίνη), δεδομένου ότι η απόκριση στη φόρτιση εξουδετερώθηκε από τα αντισώματα β3 και ανβ5 των ιντεγρινών.

Οι Calvalho και συν.⁴⁶ έδειξαν ότι η μηχανική διέγερση των οστικών κυττάρων προκαλεί μια σημαντική αύξηση στην έκφραση του β1mRNA μέσα σε 30 λεπτά (ενώ η έκφρασή του αν δεν αλλάζει). Η σταθερή προσκόλληση στο εξωκυττάριο στρώμα στην περιοχή των εστιών προσκόλλησης είναι προφανώς απαραίτητη για την αναγνώριση της μηχανικής διέγερσης (α) από τον κυτταροσκελετό και τα ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια, (β) από μηχανοευαίσθητους διαύλους ιόντων, φωσφολιπίδια, και υποδοχείς G-πρωτεϊνών στην κυτταρική μεμβράνη.

Οι Meyer και συν.⁴⁷ αναφέρουν ότι η μηχανική φόρτιση τροποποίησε τη σηματοδότηση τύπου «καταρράκτη» του cAMP και μειο-ρύθμισε την καταρροϊκή μεταγραφή γονιδίων μέσω σημάτων που παράγονται από ενεργοποιημένους δέκτες ιντεγρίνης με έναν τρόπο εξαρτώμενο από την G-protein.

ΟΙ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ

Τα τελευταία χρόνια έχει απομονωθεί ένας μεγάλος αριθμός πρωτεϊνικών ή γλυκοπρωτεϊνικών μορίων που εκκρίνονται από το κύτταρο και ενεργοποιούν μία σειρά χαρακτηριστικών αποκρίσεων (ανάπτυξη, διαφοροποίηση, ανοσολογική απάντηση). Φέρονται με την ονομασία «κυτοκίνες» και συνιστούν μία τάξη βιολογικών τροποποιητών που σχηματίζουν ένα δίκτυο ενδοκυτταρικών μηνυμάτων τα οποία μεταφέρονται από ειδικούς υποδοχείς με χαρακτηριστική ενζυμική δράση και ρυθμίζουν

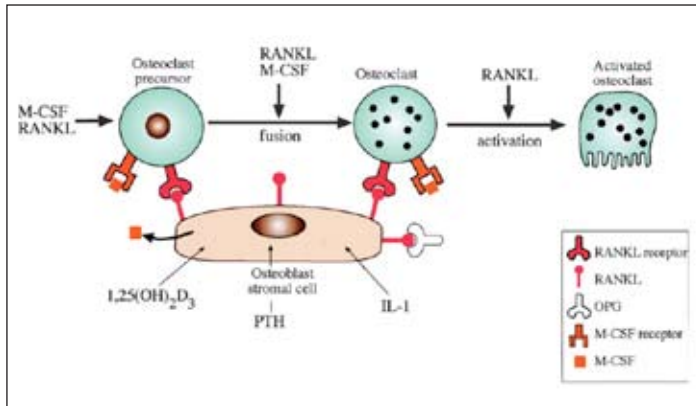
την έκφραση γονιδίων που ελέγχουν δομικές και λειτουργικές πρωτεΐνες.

Οι κυτοκίνες είναι μόρια μικρού μοριακού βάρους ($m_w < 25$ kDa) που παράγονται από κύτταρα που ρυθμίζουν ή τροποποιούν τη δράση άλλων κυττάρων με αυτοκρινή (δρουν στο κύτταρο προέλευσης) ή παρακρινή (δρουν σε παρακείμενα κύτταρα) τρόπο. Στις κυτοκίνες περιλαμβάνονται και οι ιντερλευκίνες, οι παράγοντες νέκρωσης των όγκων (TNF), οι ιντερφερόνες, οι παράγοντες ανάπτυξης και οι διεγερτικοί παράγοντες αποικιών (CSF). Η δυσκολία στην κατανόηση του βιολογικού μηχανισμού των κυτοκινών έγκειται στον μεγάλο τους αριθμό και στην πολυπλοκότητά τους. Παράλληλη δυσκολία -ιδίως στις IL-1 και TNF- αποτελεί η επικάλυψη των βιολογικών διεργασιών (redundancy) καθώς και τα πολλαπλά βιολογικά τους αποτελέσματα (pleiotropy).

Πολλές κυτοκίνες έχουν ήδη εισέλθει στη θεραπευτική, με αντιπροσωπευτικότερο δείγμα τις ιντερφερόνες και τους παράγοντες διαφοροποίησης του αιμοποιητικού συστήματος. Οι ιντερλευκίνες και ο παράγων νέκρωσης των όγκων εκδηλώνουν επίσης αντικαρκινική και ανοσορυθμιστική δράση. Η συνδυασμένη δράση κυτοκινών ή κυτοκινών και άλλων κυτταρολυτικών φαρμάκων συνιστά ειδικά θεραπευτικά σχήματα που διερευνώνται με αυξανόμενους ρυθμούς.

Ο ρόλος των κυτοκινών στη σηματοδότηση κυττάρου-κυττάρου στο οστόν

Τα κύτταρα της γενεαλογίας των οστεοβλαστών παίζουν κεντρικό ρόλο στην αναδιαμόρφωση των οστών, μια διαδικασία που περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών, των συστηματικών ορμονών, των κυτοκινών και των αυξητικών παραγόντων. Οι συστηματικές ορμόνες και τα μηχανικά ερεθίσματα επηρεάζουν τη διαδικα-



Εικόνα 12. Οι ρόλοι του RANKL, OPG, M-CSF στη ρύθμιση της ωρίμανσης και λειτουργίας οστεοκλαστών από τους οστεοβλάστες/στρωματικά κύτταρα (από Meikle 2006⁴¹).

σία μέσω της ικανότητάς τους να ελέγχουν τη σύνθεση ή/και τη δράση των κυτοκινών. Δεδομένου ότι η ανάπτυξη των οστών πραγματοποιείται σε διακριτές τοποθεσίες σε όλο το σκελετό, κυτοκίνες οστεοβλαστικής προέλευσης είναι τοποθετημένες στην ιδανική θέση για να ρυθμίζουν ή να τροποποιούν τη δράση άλλων τύπων κυττάρων στα οστά.

Η πρώτη κυτοκίνη που φάνηκε να έχει ρόλο στην παραγωγή οστού ήταν η IL-1, η οποία εκτός από την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων αποδείχθηκε ότι είναι ένας ισχυρός παράγοντας απορρόφησης οστών.^{48,49} Λίγο αργότερα οι Bertolini και συν.⁵⁰ ανέφεραν ότι ο TNFs επάγει την οστική απορρόφηση και αναστέλλει το σχηματισμό οστού *in vitro*.

Μια εξαιρετικά σημαντική κυτοκίνη που παράγεται από κύτταρα οστεοβλαστών είναι ο παράγοντας RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand) που ανήκει στην οικογένεια των TNF. Ο RANKL και ο υποδοχέας του RANK έχει κεντρικό ρόλο στην παραγωγή και λειτουργία των οστεοκλαστών^{51,52} (εικ. 12).⁴¹ Η σηματοδότηση κύτταρο-κύτταρο μέσω του RANKL είναι σημαντική για την επαγωγή της οστεοκλαστικής διαφοροποίησης. Η PTH και άλλες συστηματικές ορμόνες, οι κυτοκίνες IL-1, TNF-α και IL-6 διεγείρουν την οστική απορρόφηση μέσω της ικανότητάς τους να αυξάνουν

την έκφραση του RANKL στα οστεοβλαστικά στρωματικά κύτταρα. Μια άλλη κυτοκίνη, η οστεοπρωτογερίνη (OPG), που επίσης παράγεται από οστεοβλαστικά, στρωματικά κύτταρα, δρα ως αναστολέας της οστεοκλαστικής δραστηριότητας ανταγωνιζόμενη τον RANKL για τον μεμβρανικό υποδοχέα RANK.⁵³ Όλα τα επιστημονικά δεδομένα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι παραγόμενοι από ινοβλάστες και οστεοβλάστες RANKL και OPG διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση παραγωγής συνδετικού ιστού και οστικής απορρόφησης κατά την ορθοδοντική μετακίνηση.

Οι κυτοκίνες ως μεσολαβητές αναδιαμόρφωσης του οστού κατά την ορθοδοντική μετακίνηση

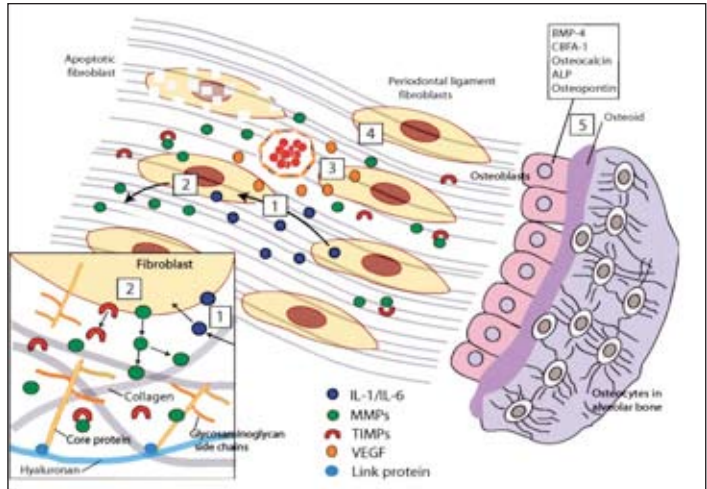
Οι πρώιμες έρευνες για τις επιπτώσεις της εφελκυστικής καταπόνησης στον κυτταρικό μεταβολισμό έδειξαν, με λίγες εξαιρέσεις, πως ό,τι μετρήθηκε πάντα φάνηκε να αυξάνεται. Οι παρατηρήσεις αυτές υπέδειξαν ότι η κυτταρική απάντηση σε μηχανικές καταπονήσεις ήταν μέρος μιας γενικευμένης αύξησης της μεταβολικής δραστηριότητας, παρά μια συγκεκριμένη απάντηση σε αυτές. Πρόσφατα, ωστόσο, οι Rubin και συν.^{54,55} έδειξαν ότι η εφελκυστική διαλείπουσα καταπόνηση που εφαρμόζεται σε στρωματικά κύτταρα μυελού των οστών επιμύων, σε καλλιέργεια, μείωσε την έκφραση του RANKL mRNA κατά περίπου 60% και κατέληξε ότι η ελάττωση του RANKL μέσω της καταπόνησης συνέβαλε στη διατήρηση της οστικής μάζας μέσω της φυσικής δραστηριότητας. Μια ακόμα πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η έκφραση των IL-10 και IL-12 (κυτοκίνες που εμποδίζουν την παραγωγή οστεοκλαστών) επηρεάστηκε από εφαρμογή εφελκυστικής, διαλείπουσας δύναμης σε οστεοβλάστες κranίων επιμύων, *in vitro*.⁵⁶ Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι σε μηχανική διέγερση (α) η σύνθεση κυτοκινών αναστέλλεται και (β) τα οστεοβλαστικά κύτταρα αποκρίνονται στην εφελκυστική τάση

επάγοντας την οστεογένεση.

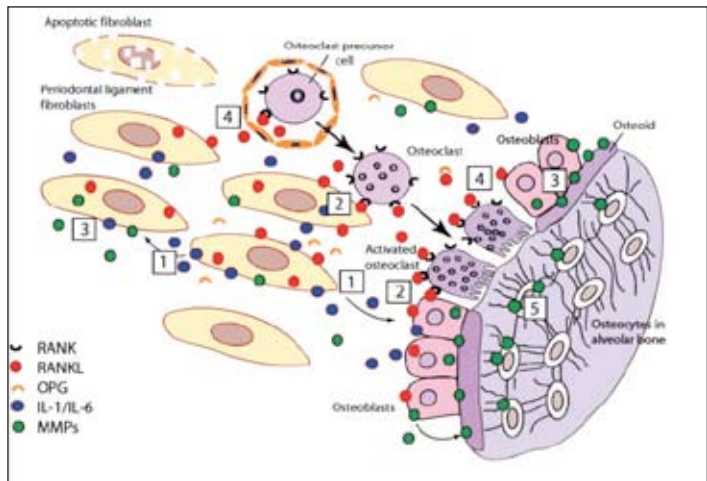
Ο Meikle το 2006 (εικ. 13,14)⁴¹ πρότεινε ότι οι τοπικά παραγόμενες κυτοκίνες από μηχανικά διεγερμένα κύτταρα όπως η IL-1 είναι ρυθμιστές των φάσεων εναπόθεσης και απορρόφησης κατά την αναδιαμόρφωση του συνδετικού ιστού. Η πρώτη πειραματική επιβεβαίωση αυτής της υπόθεσης προέκυψε από το πείραμα των Davidovitch και συν.⁵⁷ κατά το οποίο παρατηρήθηκε τοπική ανοσοεντόπιση της IL-1β στο περιοδόντιο κυνόδοντα γαλής μετά την εφαρμογή δύναμης του τύπου της απόκλισης. Έκτοτε πολυάριθμες κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι IL-1β, TNF-α, IL-6 και ο EGF είναι όλοι αυξημένοι στο υγρό της ουλοδοντικής σχισμής σε ασθενείς που βρίσκονται στην αρχική φάση της οδοντικής μετακίνησης.⁵⁸⁻⁶⁰

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΤΗΝ ΟΡΘΟΔΟΝΤΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ

Το θέμα της φλεγμονής ως απόκριση των κυττάρων ιστών που βρίσκονται σε ορθοδοντική μετακίνηση ξαναήρθε πρόσφατα στο προσκήνιο. Οι υπάρχουσες ενδείξεις ότι τόσο οι κυτοκίνες (στη βιβλιογραφία συχνά αναφέρονται ως μεσολαβητές φλεγμονής ή προφλεγμονώδεις κυτοκίνες) όσο και οι νευροδιαβιβαστές, όπως το σχετιζόμενο με το γονίδιο της καλσιτονίνης πεπτίδιο (Calcitonin gene-related peptide - CGRP) και το νευροπεπτίδιο P, συμμετέχουν στην οστική αναδιαμόρφωση έδωσε ξανά ώθηση στη θεωρία ότι η οδοντική μετακίνηση είναι μια φλεγμονώδης διαδικασία.^{57,61} Νεότερα επιστημονικά δεδομένα δείχνουν ότι η μηχανική διέγερση προκαλεί στα κύτταρα φλεγμονώδεις αποκρίσεις ανάλογες με αυτές που προκαλούνται από τους παράγοντες φλεγμονής.⁶² Ειδικότερα, στα διεγερμένα οστικά κύτταρα ανευρίσκεται ο παράγοντας NF-kB (Nuclear Factor kappa).⁶³ Ο NF-kB είναι ένας παράγοντας μεταγραφής του πυρήνα



Εικόνα 13. Αναδόμηση του περιοδοντίου: πλευρά τάσης. Σε αυτό το υποθετικό μοντέλο οι ινοβλάστες του ΠΔΣ υπό εφελκυστική τάση (tensile strain). -Συνθέτουν κυτοκίνες όπως η IL-1 και η IL-6 (1) -Η IL-1 και η IL-6 με τη σειρά τους διεγείρουν τη μεταλλοπρωτεάση του στρώματος (MMP) και εμποδίζουν τον ιστικό αναστολέα της σύνθεσης μεταλλοπρωτεάσης (TIMP) από κύτταρα του ΠΔΣ μέσω αυτοκρινών και παρακρινών μηχανισμών (2) -Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) που παράγεται από τους μηχανικά διεγερμένους ινοβλάστες προωθεί την αγγειογένεση (3) -Η αποδόμηση του εξωκυττάριου στρώματος από τις MMP διευκολύνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των τριχοειδών. -Τα κύτταρα του ΠΔΣ (4), οι οστεοβλάστες και τα οστικά-επενδυτικά κύτταρα εισέρχονται σε βιοσυνθετική φάση συνθέτοντας δομικά και άλλα μόρια του στρώματος από Meikle 2006⁴¹).



Εικόνα 14. Αναδόμηση του περιοδοντίου: πλευρά πίεσης. Σε αυτό το υποθετικό μοντέλο οι ινοβλάστες του ΠΔΣ υπό θλιπτική τάση (compressive strain). -Συνθέτουν IL-1 και IL-6 (1). -Οι IL-1 και IL-6 δρουν με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο πλειορυθμίζοντας τον RANKL (2) και τη MMP (3) έκφραση των κυττάρων του ΠΔΣ και των οστεοβλαστών. -Οι παραγόμενες από οστεοβλάστες MMP αποδομούν τη μη ενασβεστωμένη επιφάνεια του οστικού οστεοειδούς στρώματος ενώ οι MMP που παράγονται από τα κύτταρα του ΠΔΣ αποδομούν το εξωκυττάριο στρώμα. -Ο RANKL (4) διεγείρει την παραγωγή και λειτουργία των οστεοκλαστών από μονοπύρρηνα προγονικά κύτταρα τα οποία φτάνουν στην οστική επιφάνεια και αποδομούν το ενασβεστωμένο στρώμα -Η παραμόρφωση του φατνιακού οστού πλειορυθμίζει την έκφραση των MMP από οστεοκύτταρα παρακείμενα στην οστική επιφάνεια (από Meikle 2006⁴¹).

και ανευρίσκεται σε κύτταρα όλων των τύπων, ενέχεται, δε, σε κυτταρικές αποκρίσεις σε ερεθίσματα όπως η τάση, οι κυτοκίνες, οι ελεύθερες ρίζες, η υπεριώδης ακτινοβολία και τα βακτηριακά ή ιικά αντιγόνα. Ο NF-κΒ παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απόκριση κατά τη λοίμωξη και ως μεταγραφικός παράγοντας στη ρύθμιση γονιδίων που συμμετέχουν στη διαδικασία αύξησης και ανάπτυξης. Κατά συνέπεια, λανθασμένη ρύθμιση του NF-κΒ έχει συσχετιστεί με καρκινογένεση, φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες αντιδράσεις, σηπτικό σοκ, ιική λοίμωξη και ακατάλληλη ανάπτυξη του ανοσοποιητικού. Σύγχρονοι επιστήμονες, δε, προτείνουν αναστολή της δράσης του NF-κΒ για θεραπεία της φλεγμονής και του καρκίνου.

Μπορεί η ορθοδοντική μετακίνηση να θεωρηθεί μια φλεγμονώδης διαδικασία;

Η απάντηση εδώ είναι πολύπλοκη και εξαρτάται από τον ορισμό της φλεγμονής. Ως φλεγμονή θεωρείται η τοπική απόκριση του ξενιστή στη μικροβιακή λοίμωξη ή στην καταστροφή των κυττάρων. Υπό κανονικές συνθήκες η οδοντική μετακίνηση θεωρείται άσηπτη διαδικασία και σε περίπτωση που προκαλέσει βλάβη στους ιστούς αυτό οφείλεται αποκλειστικά στο μέγεθος της ασκούμενης δύναμης. Επιπροσθέτως, η οδοντική μετακίνηση δεν πληροί τα τέσσερα κλασικά κριτήρια της φλεγμονής (ερυθρότητα, οίδημα, θερμότητα, πόνος) με εξαίρεση ίσως το κριτήριο του πόνου, πάντα βέβαια σε συνδυασμό με την εξάσκηση υψηλών δυνάμεων.

Η περιγραφή της ορθοδοντικής μετακίνησης ως φλεγμονώδους διαδικασίας δίδει την ψευδή εντύπωση ότι αυτή αποτελεί ένα παθολογικό γεγονός. Αυτό δεν ισχύει εκτός και αν ο ορθοδοντικός εξασκεί υπέρμετρα μεγάλες δυνάμεις στα δόντια των ανθρώπων ή των πειραματόζωων. Αν κάποιος αποπειραθεί να περιγράψει σε μία πρόταση την απόκριση των ιστών στην ορθοδοντική μετακίνηση θα μπο-

ρούσε να ισχυριστεί ότι η μετακίνηση είναι μια υπερβολική μορφή παραγωγικής δραστηριότητας συνδυασμένη με εστίες επιδιόρθωσης των ιστών ιδίως στις περιοχές πίεσης, όπου οι υαλώδεις ζώνες και τα παρακείμενα, οστού και οστεΐνη, αναδιαμορφώνονται.

Ένα νέο σηματοδοτικό μονοπάτι – Η επαγωγή της οστεογένεσης μέσω μηχανοδιέγερσης των οστεο-ειδικών Runx2, και μεταγραφικών παραγόντων c-Jun, c-Fos

Η έρευνα στην κυτταρική σηματοδότηση με πρωταρχικό ερέθισμα τη μηχανική διέγερση συνεχίστηκε και ο ρόλος νέων παραγόντων στην οστική αναδόμηση αποκαλύφθηκε. Ένα νέο μοντέλο που ξεκινά από την περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης και συνεχίζει ως τον πυρήνα προτάθηκε από τους Basdra και συν.⁶⁴⁻⁶⁶ Οι μικρού μοριακού βάρους GTP πρωτεΐνες πρόσδεσης των σχετιζομένων με Ras GTPάσες, Rab και Rho, όπως και οι ενεργοποιημένες από μιτογόνα πρωτεΐνες (mitogen-activated protein - MAP), υποτύποι της κινάσης (mitogen activated protein kinases - MAPK) που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι των ιντεγρινών, έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλονται σε μηχανικά διεγερμένους ινοβλάστες του ΠΔΣ.⁶⁴⁻⁶⁸ Τα νεότερα δεδομένα προτείνουν ότι η σηματοδότηση μέσω των MPAKs είναι ουσιαστικής σημασίας στα πρώιμα στάδια της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης.

Διερευνώντας αυτή την υπόθεση ομάδα ερευνητών έδειξε ότι ήπια μηχανική τάση εφαρμοζόμενη σε κύτταρα ανθρώπινων περιοδοντικών ινοβλαστών (πρόδρομοι οστεοβλάστες-μοντέλα, που είναι ικανοί να διαφοροποιηθούν πλήρως σε απόκριση ποικίλων εξωκυττάρων ερεθισμάτων) επάγει ταχέως τα κύρια συστατικά του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 (activator protein 1), τις πρωτεΐνες c-Jun και c-Fos^{18,68-70} (εικ. 15).⁷¹ Έχει δειχτεί ότι η σηματοδότηση μέσω ERK (extracellular

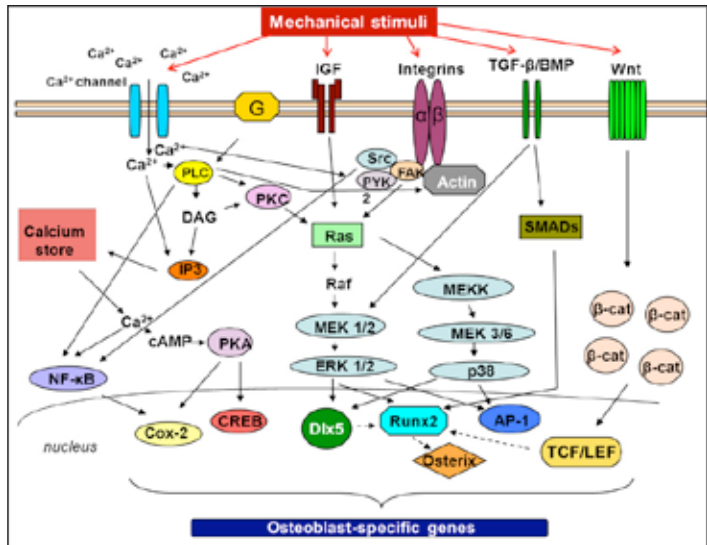
signal-regulated kinases) / MAPK πυροδοτεί την έκφραση οστεο-ειδικών γονιδίων ύστερα από αλληλεπίδραση της εξωκυττάριας ουσίας με τον υποδοχέα της ιντεγρίνης καθώς και μετά από μηχανική πίεση, διαφοροποιώντας με αυτό τον τρόπο το ποσοστό έκφρασής τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μια στροφή προς τη διαφοροποίηση και σημαίνει την έναρξη του οστεοβλαστικού φαινότυπου.

Το οστόν παράγεται από τους οστεοβλάστες που προέρχονται από πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα. Ο κύριος ρυθμιστής της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης είναι ο μεταγραφικός παράγοντας Runx2 (core-binding factor α1) ή αλλιώς Runx2, μέλος της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων runx. Ο Runx2 προσδέεται στο cis-ρυθμιστικό στοιχείο OSE2, που εδράζεται στην περιοχή του υποκινητή όλων των κύριων οστεο-ειδικών γονιδίων (οστεοκαλσίνη, κολλαγόνο τύπου I, οστική σιαλοπρωτεΐνη, οστεοποντίνη, αλκαλική φωσφατάση και κολλαγόνα-3), και με αυτό τον τρόπο ελέγχει την έκφρασή τους. Ο Runx2 δρα ως ένας κεντρικός αισθητήρας μηχανικής διέγερσης περιδοκτικών ινοβλαστών και η έκφρασή του αποτελεί γεγονός-κλειδί κατά τη διάρκεια της οστικής διαφοροποίησης και της σκελετογένεσης (εικ.16).⁷²

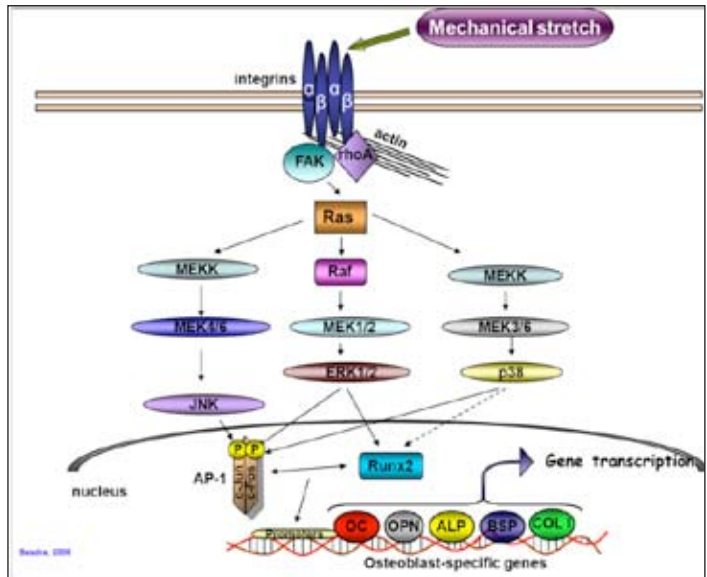
Οι μελέτες αυτές παρείχαν νέες πληροφορίες για τη μοριακή διασύνδεση μηχανικής διέγερσης και οστικής διαφοροποίησης διαμέσου της επαγωγής της έκφρασης του οστεο-ειδικού μεταγραφικού παράγοντα Runx2, καθώς και του δυναμικού πρόσδεσης στο DNA-στόχο του.

Συνοψίζοντας την αλληλουχία στο σηματοδοτικό μονοπάτι που πυροδοτείται από τη μηχανική διέγερση αδιαφοροποίητων μεσεγχυματικών κυττάρων ΠΔΣ με δυνατότητα διαφοροποίησης σε οστεοβλάστες, καθίσταται προφανές ότι λαμβάνουν χώρα τα εξής:^{18,64-70} (εικ.15-17):

(α) Διαταραχές στην προσκόλληση των



Εικόνα 15. Οστεογενετικά σηματοδοτικά μονοπάτια από Parachroni και συν. 2009⁷¹).



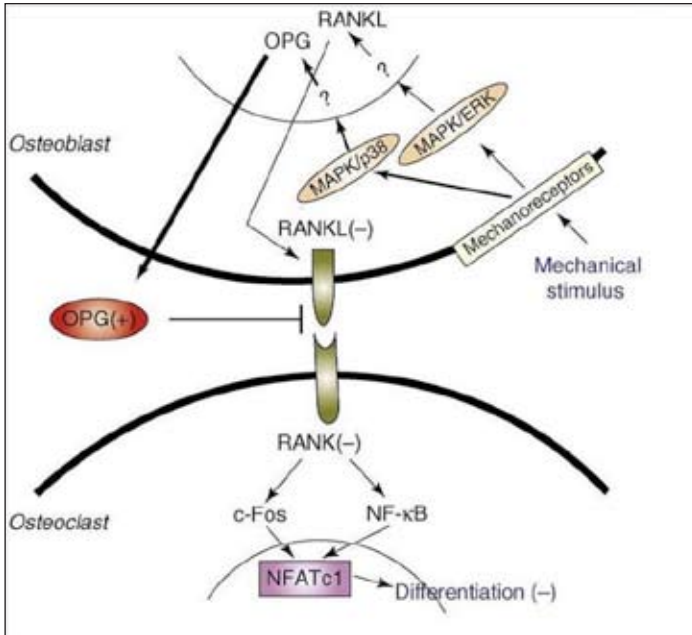
Εικόνα 16. Οι μηχανικές δυνάμεις -ως εξωτερικό ερέθισμα- δρουν σε προ-οστεοβλαστικά κύτταρα όπως οι ινοβλάστες του ΠΔΣ, διεγείροντας παράγοντες μεταγραφής που ακολούθως επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση γονιδίων-στόχων που μεταβάλλουν τη λειτουργία και την ωριμότητα των κυττάρων (από Eliades και Pandis 2009⁷²).

κυττάρων μέσω συμμετοχής των ιντεγρινών.

(β) Διαβίβαση στο κυτταρόπλασμα μέσω μικρής GTP πρωτεΐνης σύνδεσης (Rho και Rab).

(γ) Ενεργοποίηση μέσω του μονοπατιού MAPK (ERK, JNK).

(δ) Ενεργοποίηση οστεο-ειδικών μεταγραφικών παραγόντων Runx2 και c-Jun, c-Fos.



Εικόνα 17. Οστική αναδόμηση υπό μηχανική διέγερση. Μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ οστεοβλαστών και οστεοκλαστών κατά την οστική αναδόμηση. Η εφαρμογή μηχανικής δύναμης στους οστεοβλάστες επάγει την OPG και μειώνει την έκφραση του RANKL που στη συνέχεια μειώνει την αλληλεπίδραση RANKL-RANK και την οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Η MAPK p38 μεσολαβεί στην επαγωγή της OPG, ενώ η MAPK ERK στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων που προκαλούν την έκφραση του RANKL. Παρότι οι OPG και RANKL ελέγχονται από άγνωστα έως τώρα μόρια, η οστεοκλαστική ωρίμανση ελέγχεται από τον RANK που ενισχύει το c-Fos και το NF-κB, διεγείρει το γονίδιο NFATc1 και οδηγεί σε διαφοροποίηση των οστεοκλαστών (από Eliades και Pandis 2009²).

(ε) Διέγερση του δυναμικού πρόσδεσης του DNA σε συγκεκριμένα γονίδια που συνδέονται με οστεοβλαστική διαφοροποίηση (ALP, οστεοκαλσίνη, κολλαγόνο τύπου I).

Όλα τα ανωτέρω οδηγούν τελικά σε αλλαγή στη γονιδιακή έκφραση και επαναπρογραμματισμό προς τον οστεοβλαστικό φαινότυπο. Τα διαφοροποιημένα τώρα κύτταρα του ΠΔΣ παράγουν κυτοκίνες που εισάγουν οστεοκλαστική διαφοροποίηση και ευοδώνουν τις δραστηριότητες οστικής απορρόφησης. Η ύπαρξη και ακεραιότητα του περιρριζίου είναι απολύτως απαραίτητη για τη συνέχιση αυτού του κύκλου οστικής αναδιαμόρφωσης. Διαφαίνεται πλέον ότι ο ΠΔΣ με τον πολυδύναμο κυτταρικό πλη-

θυσμό του χρησιμεύει ως πηγή αδιαφοροποιητών μεσεγχυματικών κυττάρων που υπό μηχανική διέγερση -όπως στην ορθοδοντική μετακίνηση- διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες. Οι ώριμοι οστεοβλάστες παράγουν κυτοκίνες, όπως ο RANKL και η OPG, η ισορροπία των οποίων είναι απαραίτητη για την οστεοκλαστική διαφοροποίηση και την οστική απορρόφηση.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΤΗΝ ΟΡΘΟΔΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Στην ορθοδοντική υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην απόκριση των ιστών του ΠΔΣ και του φατνιακού οστού στην ορθοδοντική δύναμη ανάμεσα στους ασθενείς. Αυτό το φαινόμενο αντανάκλα τις διαφορές που υπάρχουν σε ιστολογικό/κυτταρικό επίπεδο (όπως ο συνολικός αριθμός ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων -η οστική πυκνότητα-, η αγγείωση κ.ά.) αλλά και σε μοριακό επίπεδο (γονιδίωμα -μεταγραφή σηματοδοτικών πρωτεϊνών - αυξητικοί παράγοντες - κυτοκίνες). Η «ENCODE» (Encyclopedia of DNA Elements)⁷³ έχει αρχίσει να προσδιορίζει όλα τα «δομικά και λειτουργικά στοιχεία του ανθρώπινου γονιδιώματος». Αυτό το γεγονός σε συνδυασμό με περαιτέρω έρευνες θα επιτρέψει το συσχετισμό των γονιδίων με την κλινική εικόνα του ασθενούς και τη θεραπευτική παρέμβαση μέσω εργαστηριακά παραγόμενων πρωτεϊνών.

Η δυνατότητα παρέμβασης σε μοριακό επίπεδο και καθοδήγησης της διαφοροποίησης των ινοβλαστών του ΠΔΣ προς οστεοβλαστικό ή οστεοκλαστικό φαινότυπο θα αποτελέσει ένα μεγάλο εφελτήριο για την έναρξη της μοριακά υποβοηθούμενης ορθοδοντικής μετακίνησης. Οι ορθοδοντικοί θα αρχίσουν να χρησιμοποιούν βιολογικούς τροποποιητές με σκοπό την επαγωγή ή αναστολή του ρυθμού ορθοδο-

ντικής μετακίνησης. Στο σχέδιο θεραπείας θα υπεισέρχονται με αυτό τον τρόπο σειρές μοριακών παρεμβάσεων με σκοπό τη μεγιστοποίηση της προσαρμοστικής απόκρισης των ιστών.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει περιορισμένος αριθμός εργασιών σχετικά με τη μοριακή απόκριση των ανθρώπινων περιοδοντικών ινοβλαστών ύστερα από μηχανική διέγερση που εκφράζεται μέσω της κυτταρικής σηματοδότησης. Στην Ελλάδα σειρά εκτεταμένων ερευνών πάνω στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση των ινοβλαστών του ΠΔΣ πραγματοποιούνται στο εργαστήριο «κυτταρικού πολλαπλασιασμού και γήρανσης» του «Δημόκριτος ΕΚΕΦΕ», καθώς και στο εργαστήριο Βιολογικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Σκοπός των ερευνών είναι η μελέτη της επίδρασης της ηλικίας αλλά και του επαναλαμβανόμενου μηχανικού στρες στην έκφραση μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση των ινοβλαστών του περιρριζίου. Στις έρευνες συμμετέχει ομάδα επιστημόνων από την Οδοντιατρική και Ιατρική Σχολή του ΕΚΠΑ, καθώς και από το Τμήμα Ορθοδοντικής και Παιδοδοντιατρικής του Πανεπιστημίου της Ζυρίχης.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η ασκούμενη μηχανική δύναμη μετατρέπεται σε βιοχημική αντίδραση στα κύτταρα και στους ιστούς που περιβάλλουν τις οδοντικές ρίζες έχει υπάρξει πρόσφατα το επίκεντρο σημα-

ντικών ερευνών. Η απόκριση των πολυδύναμων κυττάρων μεσεγχυματικού ιστού του περιρριζίου στις εξωγενείς μηχανικές δυνάμεις που ασκούνται στον οδοντικό φραγμό οδηγεί μέσω ειδικών σηματοδοτικών μονοπατιών στην αναδιαμόρφωση του οστού (περιστασιακά και της ρίζας) και στην κατά συνέπεια οδοντική μετακίνηση. Το πολλαπλών δυνατοτήτων περιρριζίο είναι μια πολύπλοκη κατασκευή που δύναται να έχει ρόλο στηρικτικού-συνδετικού ιστού, να αποτελεί πηγή οστεοβλαστών, καθώς και να είναι ο στόχος κυτοκινών, νευροδιαβιβαστών αλλά και κυτταρικών-ρυθμιστικών παραγόντων. Η αιτία που κάνει το περιρριζίο να αναλαμβάνει διαφορετικούς ρόλους είναι απαραίτητη γνώση που οδηγεί στην κατανόηση της μοριακής βιολογίας της ορθοδοντικής μετακίνησης.

Η επιστημονική γνώση που συνεχώς προκύπτει από πολυεπίπεδη έρευνα στον τομέα της ορθοδοντικής υποστηρίζει ότι η βιολογία του ασθενούς είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ορθοδοντικής διάγνωσης, του σχεδιασμού και της θεραπείας. Ως εκ τούτου, οι μηχανισμοί, το σύστημα εμβιομηχανικής και οι εκάστοτε διαδικασίες που αποσκοπούν στην ορθοδοντική θεραπεία θα πρέπει να σχεδιάζονται υπό το πρίσμα του βιολογικού προφίλ κάθε ασθενούς, όπως άλλωστε γίνεται σε όλες τις ιατρικές ειδικότητες. Σύντομα αναμένεται να υπάρξει πειραματική κλινική εφαρμογή των δεδομένων που προκύπτουν από τις έρευνες στην οστική αναδόμηση ύστερα από μηχανοδιέγερση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Stanstedt C. Enige Beitrage zur Theorie der Zahnregulieung. Nordisk Tandlakere Tidskrift 1904: 236-256.
2. von Meyer H. Die Architektur der Spongiosa. Archiv fur Anatomie und Physiologie 1867;47: 615-628.
3. Wolff JD. Das Gesetz der Transformation der Knochen. Verlag von August Hirschwald. 1892;Berlin.
4. <http://www.york.ac.uk/res/btr/Image%20Library/Bone%20remodelling.jpg>.
5. Frost HM. Bone Remodeling Dynamics. Springfield, Ill. Charles C Thomas, 1963:175.
6. Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. Nature 2003;423: 349-355.
7. Hert J, Liskova M, Landa J. Reaction of bone to mechanical stimuli. 1. Continuous and intermittent loading of tibia in rabbit. Folia Morphol (Praha) 1971;19:290-300.
8. Lanyon LE, Baggott DG. Mechanical function as an influence on the structure and form of bone. J Bone Joint Surg Br 1976;58-B:436-443.
9. Pead MJ, Skerry TM, Lanyon LE.

- Direct transformation from quiescence to bone formation in the adult periosteum following a single brief period of bone loading. *J Bone Miner Res* 1988;3:647-656.
10. Chambers TJ, Evans M, Gardner TN, Turner-Smith A, Chow JW. Induction of bone formation in rat tail vertebrae by mechanical loading. *Bone Miner* 1993;20:167-178.
 11. Chow JW, Wilson AJ, Chambers TJ, Fox SW. Mechanical loading stimulates bone formation by reactivation of bone lining cells in 13-week-old rats. *J Bone Miner Res* 1998;13:1760-1767.
 12. Krishnan V, Davidovich Z. *Biological Mechanisms of tooth movement*. Blackwell Publishing Ltd; 2009.
 13. Otto F, Thornell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell* 1997;89:765-771.
 14. Mundlos S. *Cleidocranial dysplasia: clinical and molecular genetics*. *J Med Genet* 1999;36:177-182.
 15. Zhao Y, Wang C, Li S, Song H, Wei F, Pan K et al. Expression of Osterix in mechanical stress-induced osteogenic differentiation of periodontal ligament cells in vitro. *Eur J Oral Sci* 2008;116:199-206.
 16. Bakiri L, Reschke MO, Gefroh HA, Idarraga MH, Polzer K, Zenz R et al. Functions of Fos phosphorylation in bone homeostasis, cytokine response and tumorigenesis. *Oncogene* 2011;30:1506-1517.
 17. <http://www.scq.ubc.ca/conversing-at-the-cellular-level-an-introduction-to-signal-transduction/>.
 18. Ziros PG, Basdra EK, Papavassiliou AG. Runx2: of bone and stretch. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:1659-1663.
 19. Neidlinger-Wilke C, Wilke HJ, Claes L. Cyclic stretching of human osteoblasts affects proliferation and metabolism: a new experimental method and its application. *J Orthop Res* 1994;12:70-78.
 20. Harell A, Dekel S, Binderman I. Biochemical effect of mechanical stress on cultured bone cells. *Calcif Tissue Res* 1977;22 Suppl: 202-207.
 21. Yeh CK, Rodan GA. Tensile forces enhance prostaglandin E synthesis in osteoblastic cells grown on collagen ribbons. *Calcif Tissue Int* 1984;36 Suppl 1:567-71.
 22. Sandy JR, Meghji S, Farndale RW, Meikle MC. Dual elevation of cyclic AMP and inositol phosphates in response to mechanical deformation of murine osteoblasts. *Biochim Biophys Acta* 1989;1010: 265-269.
 23. Davidson RM, Tatakis DW, Auerbach AL. Multiple forms of mechanosensitive ion channels in osteoblast-like cells. *Pflugers Arch* 1990;416:646-651.
 24. McDonald F, Somasundaram B, McCann TJ, Mason WT, Meikle MC. Calcium waves in fluid flow stimulated osteoblasts are G protein mediated. *Arch Biochem Biophys* 1996;326:31-38.
 25. Hong SL, Polsky-Cynkin R, Levine L. Stimulation of prostaglandin biosynthesis by vasoactive substances in methylcholanthrene-transformed mouse BALB/3T3. *J Biol Chem* 1976;251:776-780.
 26. Rodan GA, Bourret LA, Harvey A, Mensi T. Cyclic AMP and cyclic GMP: mediators of the mechanical effects on bone remodeling. *Science* 1975;189:467-469.
 27. Davidovitch Z, Shanfeld JL. Cyclic AMP levels in alveolar bone of orthodontically-treated cats. *Arch Oral Biol* 1975;20:567-574.
 28. Somjen D, Binderman I, Berger E, Harell A. Bone remodelling induced by physical stress is prostaglandin E2 mediated. *Biochim Biophys Acta* 1980;627:91-100.
 29. Yamasaki K, Miura F, Suda T. Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. *J Dent Res* 1980;59:1635-1642.
 30. Yamasaki K, Shibata Y, Fukuhara T. The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (*Macaca fuscata*). *J Dent Res* 1982;61:1444-1446.
 31. Yamasaki K, Shibata Y, Imai S, Tani Y, Shibasaki Y, Fukuhara T. Clinical application of prostaglandin E1 (PGE1) upon orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 1984;85:508-518.
 32. Sandy JR, Harris M. Prostaglandins and tooth movement. *Eur J Orthod* 1984;6:175-182.
 33. Meghji S, Sandy JR, Scutt AM, Harvey W, Harris M. Stimulation of bone resorption by lipoxigenase metabolites of arachidonic acid. *Prostaglandins* 1988;36:139-149.
 34. Bourret LA, Rodan GA. The role of calcium in the inhibition of cAMP accumulation in epiphyseal cartilage cells exposed to physiological pressure. *J Cell Physiol* 1976;88:353-361.
 35. Davidovitch Z, Montgomery PC, Gustafson GT, Eckerdal O. Cellular localization of cyclic AMP in periodontal tissues during experimental tooth movement in cats. *Calcif Tissue Res* 1976;19:317-329.
 36. Streb H, Irvine RF, Berridge MJ, Schulz I. Release of Ca²⁺ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature* 1983;306:67-69.
 37. Farndale RW, Sandy JR, Atkinson SJ, Pennington SR, Meghji S, Meikle MC. Parathyroid hormone and prostaglandin E2 stimulate both inositol phosphates and cyclic AMP accumulation in mouse osteoblast cultures. *Biochem J* 1988;252: 263-268.
 38. Dolce C, Kinniburgh AJ, Dziak R. Immediate early-gene induction in rat osteoblastic cells after mechanical deformation. *Arch Oral Biol* 1996;41:1101-1108.
 39. Ingber D. Integrins as mechanochemical transducers. *Curr Opin Cell Biol* 1991;3:841-848.
 40. Sastry SK, Burridge K. Focal adhesions: a nexus for intracellular signaling and cytoskeletal dynamics. *Exp Cell Res* 2000;261:25-36.
 41. Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod* 2006;28:221-240.
 42. Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* 1993;260:1124-1127.
 43. Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science* 1995;268:233-239.
 44. Shyy JY, Chien S. Role of integrins in cellular responses to mechanical stress and adhesion. *Curr Opin Cell Biol* 1984;6:175-182.

- Biol 1997;9:707-713.
45. Wilson E, Sudhir K, Ives HE. Mechanical strain of rat vascular smooth muscle cells is sensed by specific extracellular matrix/integrin interactions. *J Clin Invest* 1995;96:2364-2372.
 46. Calvalho RS, Bumann A, Schwarzer C, Scott E, Yen EH. A molecular mechanism of integrin regulation from bone cells stimulated by orthodontic forces. *Eur J Orthod* 1996;18:227-235.
 47. Meyer CJ, Alenghat FJ, Rim P, Fong JH, Fabry B, Ingber DE. Mechanical control of cyclic AMP signaling and gene transcription through integrins. *Nat Cell Biol* 2000;2:666-668.
 48. Gowen M, Meikle MC, Reynolds JJ. Stimulation of bone resorption in vitro by a non-prostanoid factor released by human monocytes in culture. *Biochim Biophys Acta* 1983;762:471-474.
 49. Heath JK, Saklatvala J, Meikle MC, Atkinson SJ, Reynolds JJ. Pig interleukin 1 (catabolin) is a potent stimulator of bone resorption in vitro. *Calcif Tissue Int* 1985; 37:95-97.
 50. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature* 1986;319:516-518.
 51. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-176.
 52. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:3597-3602.
 53. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-319.
 54. Rubin J, Murphy T, Nanes MS, Fan X. Mechanical strain inhibits expression of osteoclast differentiation factor by murine stromal cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;278:C1126-1132.
 55. Rubin J, Murphy TC, Fan X, Goldschmidt M, Taylor WR. Activation of extracellular signal-regulated kinase is involved in mechanical strain inhibition of RANKL expression in bone stromal cells. *J Bone Miner Res* 2002;17:1452-1460.
 56. Garcia-Lopez S, Meikle MC, Villanueva RE, Montano L, Masso F, Ramirez-Amador V et al. Mechanical deformation inhibits IL-10 and stimulates IL-12 production by mouse calvarial osteoblasts in vitro. *Arch Oral Biol* 2005;50:449-452.
 57. Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfeld JL. Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent Clin North Am* 1988;32:411-435.
 58. Grieve WG, 3rd, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM. Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994;105:369-374.
 59. Lowney JJ, Norton LA, Shafer DM, Rossomando EF. Orthodontic forces increase tumor necrosis factor alpha in the human gingival sulcus. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995;108:519-524.
 60. Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 1996;75:562-567.
 61. Davidovitch Z. Cell biology associated with tooth movement. In: Berkovitz B, Moxham B, Newman H N (eds) *The periodontal ligament in health and disease*. Philadelphia; 1995.
 62. Dumont N, Lepage K, Cote CH, Frenette J. Mast cells can modulate leukocyte accumulation and skeletal muscle function following hindlimb unloading. *J Appl Physiol* 2007;103:97-104.
 63. Kurokouchi K, Jacobs CR, Donahue HJ. Oscillating fluid flow inhibits TNF-alpha -induced NF-kappa B activation via an Ikappa B kinase pathway in osteoblast-like UMR106 cells. *J Biol Chem* 2001;276:13499-13504.
 64. Basdra EK, Kohl A, Komposch G. Mechanical stretching of periodontal ligament fibroblasts—a study on cytoskeletal involvement. *J Orofac Orthop* 1996;57:24-30.
 65. Basdra EK, Komposch G, Huber LA, Papavassiliou AG. Mechanically stretched periodontal ligament fibroblasts: Identifying components of the mechanotransduction cascade. Boston, MA USA; 1996.
 66. Basdra EK, Papavassiliou AG, Huber LA. Rab and rho GTPases are involved in specific response of periodontal ligament fibroblasts to mechanical stretching. *Biochim Biophys Acta* 1995;1268:209-213.
 67. Kletsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. Mechanical stress induces DNA synthesis in PDL fibroblasts by a mechanism unrelated to autocrine growth factor action. *FEBS Lett* 1998;430:358-362.
 68. Peverali FA, Basdra EK, Papavassiliou AG. Stretch-mediated activation of selective MAPK subtypes and potentiation of AP-1 binding in human osteoblastic cells. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)* 2001;7:68-78.
 69. Kletsas D, Basdra EK, Papavassiliou AG. Effect of protein kinase inhibitors on the stretch-elicited c-Fos and c-Jun up-regulation in human PDL osteoblast-like cells. *J Cell Physiol* 2002;190:313-321.
 70. Ziros PG, Gil AP, Georgakopoulos T, Habeos I, Kletsas D, Basdra EK et al. The bone-specific transcriptional regulator Cbfa1 is a target of mechanical signals in osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2002; 277:23934-23941.
 71. Papachroni KK, Karatzas DN, Papavassiliou KA, Basdra EK, Papavassiliou AG. Mechanotransduction in osteoblast regulation and bone disease. *Trends Mol Med* 2009;15:208-216.
 72. Eliades T, Pandis N. *Self-Ligation in Orthodontics*. Blackwell Publishing Ltd.; 2009.
 73. The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science* 2004; 306:636-640.