

MEKANISME EPIGENETIK PADA OSTEOPOROSIS PASCA MENOPAUSE

¹Mohammad Kuntadi Syamsul Hidayat ²Kusuma Andriana

¹Departemen Kedokteran Keluarga Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang Indonesia

²Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Malang Indonesia

ABSTRAK

Osteoporosis pasca menopause adalah gangguan kronis yang ditandai oleh degradasi massa tulang serta modifikasi mikrostruktur tulang, yang mengakibatkan penurunan kekuatan tulang dan peningkatan risiko fraktur yang terjadi pada perempuan pasca menopause. Kondisi hipoestrogen menyebabkan peningkatan aktivitas osteoklast dan penurunan aktivitas osteoblast, sehingga terjadi penurunan massa tulang yang cepat akibat ketidakseimbangan pembentukan dan resorpsi tulang. Epigenetik adalah studi tentang perubahan dalam ekspresi gen yang tidak melibatkan perubahan pada urutan DNA. Mekanisme epigenetik, seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan regulasi oleh RNA non-coding (ncRNA), memainkan peran penting dalam pengaturan ekspresi gen yang terlibat dalam proses biologis termasuk pembentukan dan perombakan tulang. Penurunan kadar estrogen pada menopause mengganggu berbagai mekanisme epigenetik yang berperan dalam mengatur homeostasis tulang: Metilasi DNA: Menyebabkan hipermetilasi gen penting seperti RUNX2 dan SOST, yang menurunkan ekspresi gen-gen ini dan mengurangi pembentukan tulang. Modifikasi Histon: mengurangi asetilasi histon melalui peningkatan aktivitas histone deacetylase (HDAC), menyebabkan penurunan ekspresi gen yang penting untuk osteogenesis. RNA Non-coding: mengubah ekspresi miRNA dan lncRNA yang mengatur diferensiasi dan aktivitas osteoblast dan osteoklast, berkontribusi pada ketidak-seimbangan antara pembentukan dan resorpsi tulang.

Kata kunci : osteoporosis, menopause, epigenetik, metilasi DNA, modifikasi histon, RNA non-coding

ABSTRACT

Postmenopausal osteoporosis is a chronic disorder characterized by the degradation of bone mass and modification of bone microstructure, resulting in decreased bone strength and an increased risk of fractures in postmenopausal women. Hypoestrogen conditions cause an increase in osteoclast activity and a decrease in osteoblast activity, resulting in a rapid decrease in bone mass due to an imbalance in bone formation and resorption. Epigenetics is the study of changes in gene expression that do not involve changes to the DNA sequence. Epigenetic mechanisms, such as DNA methylation, histone modifications, and regulation by non-coding RNAs (ncRNAs), play an important role in regulating the expression of genes involved in biological processes, including bone formation and remodeling. The decrease in estrogen levels in menopause disrupts various epigenetic mechanisms that play a role in regulating bone homeostasis. DNA methylation leads to the hypermethylation of important genes such as RUNX2 and SOST, which decreases the expression of these genes and reduces bone formation. Histone Modification: reduces histone acetylation through increasing histone deacetylase (HDAC) activity, leading to decreased expression of genes important for osteogenesis. Non-coding RNA: alters the expression of miRNAs and lncRNAs that regulate osteoblast and osteoclast differentiation and activity, contributing to the imbalance between bone formation and resorption.

Keywords : osteoporosis, menopause, epigenetic, DNA methylation, histone modifications, non-coding RNAs

*Korespondensi penulis :

Nama : Kusuma Andriana

Instansi : Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

Alamat : Jl. Bendungan Sutami No. 188a, Kota Malang, Jawa Timur

Email : kusuma@umm.ac.id

Pendahuluan

Osteoporosis adalah gangguan kronis yang ditandai oleh degradasi massa tulang serta modifikasi mikrostruktur tulang, yang mengakibatkan penurunan kekuatan tulang dan peningkatan risiko fraktur (1–3). Kelainan ini lebih umum terjadi pada perempuan, terutama setelah mencapai masa menopause, akibat turunnya kadar estrogen. Hormon estrogen memainkan peran penting dalam menjaga kepadatan tulang (4). Estrogen memiliki fungsi mengatur keseimbangan antara aktivitas osteoblas dan osteoklas. Penurunan kadar estrogen menyebabkan peningkatan aktivitas osteoklas dan penurunan aktivitas osteoblas, yang menyebabkan penurunan massa tulang yang cepat dan risiko osteoporosis yang meningkat (3,4). Faktor-faktor yang mempengaruhi timbulnya osteoporosis meliputi variabel genetik, hormonal, nutrisi, tingkat aktivitas fisik, serta pola gaya hidup (4).

Epigenetik merujuk pada analisis perubahan-perubahan dalam aktivasi gen yang tidak berkaitan dengan modifikasi urutan DNA. Proses epigenetik, seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan kontrol oleh *non coding* RNA (ncRNA), memiliki signifikansi dalam mengontrol aktivasi gen yang terlibat dalam proses biologis esensial, termasuk pembentukan dan resorpsi tulang. (3,5)

Memperoleh pemahaman mengenai bagaimana mekanisme epigenetik mempengaruhi kesehatan tulang pada wanita yang telah memasuki masa menopause dapat membuka pintu bagi pengembangan intervensi terapeutik yang baru. Sebagai contoh, penelitian sedang dilakukan pada inhibitor deasetilase histon (HDAC) dan agen demetilasi DNA untuk mengeksplorasi potensi mereka dalam mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam pembentukan dan penyerapan tulang, dengan tujuan menghasilkan terapi yang lebih efektif dalam pencegahan dan penanganan osteoporosis pada periode pascamenopause.

Review ini bertujuan untuk mengulas mekanisme epigenetik yang berperan dalam

patogenesis osteoporosis pada wanita menopause, serta mengeksplorasi potensi terapi epigenetik dalam mengelola kondisi ini.

Metodologi

Penelitian ini dilakukan dengan metode *literatur review*. Pustaka yang digunakan berindekstasi nasional dan juga internasional yang terbit dalam kurun waktu 10 (sepuluh) tahun terakhir.

Epidemiologi Osteoporosis

Osteoporosis menjadi masalah kesehatan global yang mempengaruhi jutaan orang di seluruh dunia. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), lebih dari 200 juta orang menderita osteoporosis. Prevalensi osteoporosis meningkat seiring dengan bertambahnya usia, terutama pada wanita pascamenopause. Diperkirakan bahwa sekitar 1 dari 3 wanita dan 1 dari 5 pria di atas usia 50 tahun akan mengalami patah tulang akibat osteoporosis selama hidup mereka. Angka kejadian patah tulang pinggul, yang merupakan salah satu komplikasi serius osteoporosis, meningkat tajam di banyak negara, terutama di Asia dan Eropa. (6)

Di Indonesia, osteoporosis juga menjadi masalah kesehatan, terutama di populasi lanjut usia. Data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan bahwa prevalensi osteoporosis pada perempuan di atas usia 50 tahun mencapai sekitar 23% dan meningkat menjadi 53% pada perempuan berusia lebih dari 80 tahun. Faktor risiko utama untuk osteoporosis di Indonesia termasuk usia lanjut, defisiensi vitamin D, rendahnya asupan kalsium, dan gaya hidup yang tidak aktif. Dengan meningkatnya harapan hidup, prevalensi osteoporosis diperkirakan akan terus meningkat, menambah beban pada sistem kesehatan. (7,8)

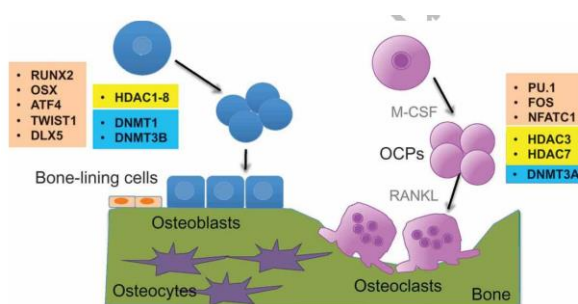
Hasil dan Pembahasan

Mekanisme Epigenetik pada Remodelling Tulang

Keseimbangan dan kontrol terhadap difrensiasi osteoblas dan osteoklas merupakan prasyarat

bagi *remodeling* dan kesehatan tulang. *Remodelling* tulang memerlukan koordinasi yang baik dan sinkronisasi antara osteoklas, osteoblas, *bone-lining cells* dan osteosit (9–11)

Epigenetik adalah perubahan herediter dalam ekspresi gen yang tidak melibatkan perubahan urutan DNA itu sendiri. Mekanisme epigenetik yang utama termasuk metilasi DNA, modifikasi histon, dan regulasi oleh RNA non-coding. Mekanisme ini memainkan peran penting dalam *remodelling* tulang, yaitu proses dinamis di mana tulang lama digantikan oleh tulang baru melalui aktivitas osteoklas (sel perombak tulang) dan osteoblast (sel pembentuk tulang). (1,12,13)



Gambar 1. Proses remodeling tulang dan faktor epigenetik.

Remodeling tulang adalah proses yang seimbang dan terjadi pada unit multiseluler dasar. Pada tahap istirahat, permukaan tulang non-remodeling ditutupi oleh sel-sel lapisan tulang. Osteosit mendeteksi kerusakan tulang dan merekrut *osteoclast precursor cells* (OCP), yang selanjutnya berdiferensiasi menjadi osteoklas matang. Osteoklas meresorpsi matriks tulang yang rusak atau tua dan kemudian osteoblas direkrut ke lokasi resorpsi dan membentuk tulang baru. Osteoklas merupakan difrensiasi dari *hematopoietic stem cells* (HSC). *Mesenchymal stem cells* (MSC) dan (RANKL (*Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*)) adalah penggerak utama osteoklastogenesis. M-CSF memungkinkan HSC untuk berdiferensiasi menjadi OCP yang mengekspresikan RANK, (reseptor untuk RANKL). RANKL lebih lanjut memicu OCP menjadi osteoklas dewasa. MSC berdiferensiasi menjadi osteoblas dan faktor kopling klasik (yang dilepaskan dari matriks tulang yang diserap atau diproduksi oleh osteoklas) kemudian mempromosikan diferensiasi osteogenik melalui

jalur osteoblas. Faktor transkripsi (pada kotak oranye) merupakan enzim epigenetik utama yang terlibat dalam metilasi DNA (kotak biru), dan histone deacetylases (kotak kuning) (13)

1. Metilasi DNA

Modifikasi metilasi DNA dikendalikan oleh protein dari *family* DNA methyltransferases (DNMT), dan S-adenosylmethionine digunakan sebagai donor metil untuk residu sitosin di pulau CpG. (1) Metilasi DNA melibatkan penambahan gugus metil ke basa sitosin di nukleotida CpG, yang dapat mengakibatkan supresi ekspresi gen. (1,3,13).

Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) dan *osterix* (OSX) adalah faktor transkripsi yang esensial untuk *bone formation* dan diferensiasi osteoblast. OSX merupakan target downstream dari RUNX2. (14)

Selama diferensiasi osteoblas oleh MSC, terjadi penurunan tingkat metilasi RUNX2 yang menunjukkan bahwa metilasi RUNX2 memainkan peran pengaturan yang penting dalam difrensiasi osteoblas (13,15). Hipermetilasi pada promotor gen RUNX2 menghambat ekspresi RUNX2, mengurangi pembentukan osteoblast, dan menghambat pembentukan tulang baru. (3)

Sclerostin diidentifikasi sebagai regulator yang penting untuk *bone homeostasis* melalui penghambatan terhadap jalur *canonical Wnt-signaling*. *Sclerostin* dikode oleh gen SOST, protein yang menghambat pembentukan tulang. Hipermetilasi pada promotor gen SOST mengurangi ekspresi sclerostin, yang bisa meningkatkan pembentukan tulang. Namun, ketidakseimbangan dalam pola metilasi dapat mengganggu proses *remodelling* tulang.(9)

2. Modifikasi Histon

Modifikasi histon melibatkan penambahan berbagai gugus kimia pada asam amino protein histon, yang merupakan komponen utama kromatin. Modifikasi ini dapat mencakup metilasi, asetilasi, fosforilasi, ubiquitinasi, dan lain-lain. Modifikasi histon berperan penting

mengatur ekspresi gen selama diferensiasi osteoblas dan pembentukan tulang. (16).

Asetilasi histon adalah mekanisme epigenetik utama yang meregulasi ekspresi gen dengan memodifikasi struktur kromatin dan aksesibilitas pada faktor transkripsi. Asetilasi histon di perantarai oleh 2 kelompok enzim yaitu *histone acetyltransferases* (HATs) dan *histone deacetylases* (HDACs). (17)

Banyak penelitian melaporkan asetilasi histon meregulasi gen-gen yang berhubungan dengan ekspresi osteogenik. Asetilasi H3 dan H4 berhubungan dengan fluktuasi ekspresi gen *osteocalcin* (OCN) saat osteogenesis. Pada fase proliferasi, asetilasi H3 dan H4 menurun sehingga OCN menjadi tidak aktif. Sebaliknya, OCN akan aktif pada osteoblas yang matur dengan peningkatan asetilasi H4 (17).

Metilasi histon terjadi pada semua residu asam amino basa—lisin, arginin, dan histidin. Situs metilasi histon yang paling banyak dipelajari termasuk lisin 4 pada histon H3 (H3K4), H3K9, H3K27, H3K36, H3K79, dan H4K20. Tempat metilasi arginin (R) meliputi H3R2, H3R8, H3R17, H3R26, dan H4R3. Metilasi histon berkontribusi pada struktur kromatin aktif atau represif, bergantung pada histon dan residu modifikasi. Metilasi H3K9, H3K27, atau H4K20 sering dikaitkan dengan represi transkripsi, sedangkan metilasi H3K4, H3K36, H3K79, dan H3R17 sebagian besar dikaitkan dengan aktivasi transkripsi. (16)

Beberapa studi menunjukkan peran inhibitor HDAC pada hiperasetilasi dari diferensiasi osteoblas dan ekspresi gen. Berbagai macam inhibitor HDAC diantaranya TSA, SAHA, MS-275, *sodium butyrate*, dan asam valproat. TSA dan SAHA inhibitor kuat dari HDAC kelas I dan II, MS-275, *sodium butyrate*, dan asam valproat menghambat HDAC kelas 1. Dari penelitian invitro diperoleh penghambatan pada HDAC kelas I dan II atau kelas 1 saja akan mempercepat maturasi osteoblas, mineralisasi matriks tulang dan ekspresi gen yang berhubungan dengan diferensiasi osteoblas (seperti kolagen tipe 1, *bone sialoprotein*,

osteopontin, osteokalsin, ALPL, OSX dan Runx2). (18)

3. RNA non-coding (ncRNA)

Non-coding RNA adalah tipe RNA hasil transkripsi dari genom yang tidak mengkode protein. Terdapat tiga tipe ncRNA : (1) panjang kurang dari 50 nukleotida (nt) diantaranya microRNA (miRNA), (2) panjang antara 50-500 nt diantaranya ribosomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), (3) panjang lebih dari 500 nt diantaranya *long non-coding* RNA (lncRNA). (1,12)

miRNA meregulasi ekspresi gen melalui ikatan dengan mRNA dan mencegah terjadinya translasi. Beberapa contoh miRNA adalah miR-21, -29, -34, -103, -494-3p, -1246, -138-5p, -503-5p, and -3198. (19,20) miRNA seperti miR-214 dan miR-133a dapat mengikat mRNA target dan menghambat translasi atau menginduksi degradasi mRNA tersebut, sehingga menurunkan ekspresi protein target. miR-214 diketahui meningkatkan aktivitas osteoklas dan menghambat diferensiasi osteoblast, sementara miR-133a menghambat ekspresi RUNX2. (1,19,20)

Beberapa miRNA telah diidentifikasi berperan dalam menghambat diferensiasi osteoblas melalui target langsung ke RUNX2. miR-23a, miR-30a-d, miR-34c, miR-133a, miR-135a, miR-137, miR-204, miR-205, miR-211, miR-217, miR-335, miR-338, miR-433 dan miR-3077-5p yang menghambat diferensiasi osteoblas dengan mengikat 3' UTR RUNX2. (21,22)

Sementara miR-2861 dan miR-3960 secara tidak langsung menstimulasi ekspresi Runx2 dengan menekan translasi dari inhibitor HDAC5 dan HOXA2, sehingga memicu diferensiasi osteoblas. (21,22)

WNT/ β -catenin signaling pathway juga dibawah kontrol miRNA. Penghambatan WNT/ β -catenin signaling pathway dapat melalui : miR-31 yang dengan mengikat 3' UTR Satb2, miR-93 yang menghambat mineralisasi osteoblas dengan target langsung pada OSX, miR-139-5p: menghambat ekspresi PDE2A dan meningkatkan ekspresi NDRG4 (23)

Metilasi DNA pada osteoporosis menopause dapat memengaruhi ekspresi gen yang mengatur keseimbangan antara pembentukan tulang dan absorpsi tulang. Estrogen berperan dalam mengatur enzim DNA metiltransferase (DNMT), yang bertanggung jawab untuk menambah gugus metil pada DNA. Penurunan kadar estrogen dapat mengubah aktivitas DNMT, yang mengarah pada perubahan pola metilasi DNA. Penurunan estrogen dapat meningkatkan metilasi pada gen penting seperti RUNX2 dan SOST, yang mengakibatkan penurunan ekspresi gen-gen ini. (25)

Rofort (26) melaporkan terdapat metilasi DNA di area promotor 1500 gen yang meningkat difrensiasi metilasinya seiring bertambahnya usia. RUNX3 (promotor di BMSC) 1,2 kali lebih termetilasi pada perempuan tua sehingga menekan ekspresi RUNX3 yang berperan dalam proses pertumbuhan tulang.

Hipermetilasi pada promotor gen RUNX2 akan menyebabkan menurunnya diferensiasi osteoblast. Sementara hipermetilasi pada SOST akan menurunkan ekspresi sclerostin yang menghambat pembentukan tulang. Hipoestrogen menyebabkan peningkatan metilasi pada gen-gen ini sehingga menyebabkan menurunkan ekspresinya dan menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme tulang. (27)

Perubahan pada metilasi promotor SOST mempengaruhi ikatan estrogen dan reseptor estrogen (RE) α . Selain itu estrogen dapat meningkatkan ekspresi RE α melalui metilasi DNA yang juga berdampak terhadap fungsi biologi estrogen. (27)

Estrogen berikatan dengan RE α yang mengatur ekspresi gen dengan berinteraksi dengan enzim-enzim yang memodifikasi histon. Penurunan kadar estrogen menyebabkan berkurangnya aktivitas ER α , mengakibatkan perubahan pola metilasi histon. (28)

Estrogen juga mempengaruhi aktifitas enzim yang memodifikasi histon seperti HAT dan HDAC. Hipoestrogen akan menyebabkan turunnya aktifitas HAT dan meningkatkan aktifitas HDAC sehingga terjadi deasetilasi

histon. Hal ini menyebabkan kromatin menjadi padat dan menurunkan ekspresi gen-gen yang terkait dengan pembentukan tulang. (29)

Estrogen mengatur ekspresi berbagai ncRNA. Penurunan estrogen dapat mengubah ekspresi miRNA dan lncRNA yang penting untuk homeostasis tulang. (30)

Estrogen memicu apoptosis osteoklas yang diinduksi oleh sel BMMSC melalui regulasi ekspresi FasL. mir-181a diketahui memberikan efek regulasi negatif pada apoptosis limfosit T CD4+ yang diinduksi BMMSC, yang mungkin merupakan mekanisme kunci yang mendasari osteoporosis yang diinduksi defisiensi estrogen. (31)

Penurunan estrogen dapat meningkatkan ekspresi miR-133a, yang menargetkan dan menurunkan ekspresi RUNX2, sehingga menghambat diferensiasi osteoblast. (32) Penurunan estrogen juga menyebabkan peningkatan ekspresi MEG3. MEG3 meningkat pada perempuan dengan osteoporosis pascamenopause dan berhubungan dengan progresifitas penyakitnya. (33)

Kesimpulan

Osteoporosis menjadi masalah kesehatan global. Epigenetik menawarkan perspektif baru dalam memahami patogenesis osteoporosis pasca menopause dan membuka jalan bagi terapi inovatif yang menargetkan modifikasi epigenetik.

Referensi

1. Xu F, Li W, Yang X, Na L, Chen L, Liu G. The Roles of Epigenetics Regulation in Bone Metabolism and Osteoporosis. *Front cell Dev Biol.* 2020;8:619301.
2. Zhang G, Liu Z, Li Z, Zhang B, Yao P, Qiao Y. Therapeutic approach of natural products that treat osteoporosis by targeting epigenetic modulation. *Front Genet.* 2023;14(May):1–9.
3. Marini F, Cianferotti L, Brandi ML. Epigenetic mechanisms in bone biology and osteoporosis: Can they drive therapeutic choices? *Int J Mol Sci.* 2016;17(8).
4. Zhivodernikov I V., Kirichenko T V.,

- Markina Y V., Postnov AY, Markin AM. Molecular and Cellular Mechanisms of Osteoporosis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(21).
5. Xu F, Li W, Yang X, Na L, Chen L, Liu G. The Roles of Epigenetics Regulation in Bone Metabolism and Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;8(January):1–24.
 6. Sozen T, Ozisik L, Calik Basaran N. An overview and management of osteoporosis. *Eur J Rheumatol.* 2017;4(1):46–56.
 7. Rahayu RD. Updates on physical activity and exercise for osteoporosis: “strong, steady, straight.” *Ina Newsl [Internet].* 2024;(February). Available from: ina-repond.net
 8. Anasulfalah H, Verasita P, Widiyanto A, Atmojo JT. Smoking Behavior and the Incident of Osteoporosis in the. *Indones J Glob Health Res.* 2023;5(4):735–42.
 9. Takegahara N, Kim H, Choi Y. Unraveling the intricacies of osteoclast differentiation and maturation: insight into novel therapeutic strategies for bone-destructive diseases. *Exp Mol Med.* 2024;56(2):264–72.
 10. Bolamperti S, Villa I, Rubinacci A. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. *Bone Res.* 2022;10(1).
 11. Kenkre JS, Bassett JHD. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018;55(3):308–27.
 12. Zhong Y, Zhou X, Pan Z, Zhang J, Pan J. Role of epigenetic regulatory mechanisms in age-related bone homeostasis imbalance. *FASEB J [Internet].* 2024;38(9). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85191764867&doi=10.1096%2Ffj.202302665R&partnerID=40&md5=ee9a899af0a3f5f6bb9cc77b68bedfa3>
 13. Park-Min KH. Epigenetic regulation of bone cells. *Connect Tissue Res.* 2017;58(1):76–89.
 14. Komori T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by runx2. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7).
 15. Wakitani S, Yokoi D, Hidaka Y, Nishino K. The differentially DNA-methylated region responsible for expression of runt-related transcription factor 2. *J Vet Med Sci.* 2017;79(2):230–7.
 16. Yi SJ, Lee H, Lee J, Lee K, Kim J, Kim Y, et al. Bone remodeling: Histone modifications as fate determinants of bone cell differentiation. *Int J Mol Sci.* 2019;20(13).
 17. Ghorbaninejad M, Khademi-Shirvan M, Hosseini S, Baghaban Eslaminejad M. Epidrugs: novel epigenetic regulators that open a new window for targeting osteoblast differentiation. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):1–14.
 18. Wang JS, Yoon S, Wein MN, Hospital MG. Role of histone deacetylases in bone development and skeletal disorders. *Bone.* 2022;1–34.
 19. Ko N, Chen L, Chen K. The Role of Micro RNA and Long-Non-Coding RNA in Osteoporosis. *Int J Mol Med.* 2020;21(4886):1–18.
 20. Yan L, Liao L, Su X. Role of mechano - sensitive non - coding RNAs in bone remodeling of orthodontic tooth movement : recent advances. *Prog Orthod [Internet].* 2022; Available from: <https://doi.org/10.1186/s40510-022-00450-3>
 21. Stein JL, Hesse E, Stein GS, Lian JB. Targeting of Runx2 by miRNA-135 and miRNA-203 Impairs Progression of Breast Cancer and Metastatic Bone Disease Hanna. *Cancer Res.* 2016;75(7):1433–44.
 22. Narayanan A, Srinaath N, Rohini M, Selvamurugan N. Regulation of Runx2 by MicroRNAs in osteoblast differentiation. *Life Sci.* 2019;232(July):1–9.
 23. Shang X, Boker KO, Taheri S, Hawellek T, Lehmann W, Schilling AF. The Interaction between microRNAs and the Wnt β -Catenin Signaling Pathway in Osteoarthritis.pdf. *Internasional J Mol Sci.* 2021;22(9887).
 24. Aurilia C, Donati S, Palmini G, Miglietta F,

- lantomasi T, Brandi ML. The Involvement of Long Non-Coding RNAs in Bone. *Mol Sci.* 2021;22:1–30.
25. Zhang G, Liu Z, Li Z, Zhang B, Yao P, Qiao Y. Therapeutic approach of natural products that treat osteoporosis by targeting epigenetic modulation. 2023;(May):1–9.
26. Roforth MM, Farr JN, Fujita K, McCreedy LK, Atkinson EJ, Therneau TM, et al. Global transcriptional profiling using RNA sequencing and DNA methylation patterns in highly enriched mesenchymal cells from young versus elderly women. *Bone* [Internet]. 2015;76:49–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2015.03.017>
27. Chen Y, Sun Y, Xue X, Ma H. Comprehensive analysis of epigenetics mechanisms in osteoporosis. *Front Genet.* 2023;(March):1–17.
28. Xu Z, Yu Z, Chen M, Zhang M, Chen R, Yu H, et al. Mechanisms of estrogen deficiency-induced osteoporosis based on transcriptome and DNA methylation. *Front Cell Dev Biol.* 2022;(October):1–12.
29. Tian Q, Gao S, Zhou X, Zheng L, Zhou Y. Review Article Histone Acetylation in the Epigenetic Regulation of Bone Metabolism and Related Diseases. *Hindawi Stem cells Int.* 2021;2021:1–9.
30. Li Z, Xue H, Tan G, Xu Z. Effects of miRNAs , lncRNAs and circRNAs on osteoporosis as regulatory factors of bone homeostasis (Review). 2021;1–14.
31. Shao B, Fu X, Yu Y, Yang D. Regulatory effects of miRNA-181a on FasL expression in bone marrow mesenchymal stem cells and its effect on CD4 +T lymphocyte apoptosis in estrogen deficiency-induced osteoporosis.pdf. *Mol Med Rep.* 2018;18:920–30.
32. Lv H, Sun Y, Zhang Y. MiR-133 is Involved in Estrogen Deficiency- Induced Osteoporosis through Modulating Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Med Sci Monit.* 2015;21:1527–34.
33. Wang S. Investigation of long non-coding RNA expression profiles in patients with post-menopausal osteoporosis by RNA sequencing.pdf. *Exp Ther Med.* 2020;20:1487–97.