



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας

Μεταπτυχιακή Ειδίκευση Καθηγητών των Φυσικών Επιστημών

Διπλωματική Εργασία

Ρύθμιση της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής από Μη-Κωδικά RNAs: Νέα Μοριακά
Μονοπάτια και Διαγνωστικοί Βιοδείκτες Ενδοκρινικών Διαταραχών

Αγλαΐα Μιχαλάκη

Επιβλέπων καθηγητής: Ανδρέας Σκορίλας

Πάτρα, Σεπτέμβριος 2026

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του/της φοιτητή/φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων. *«Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν. 1599/1986 η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής εργασίας και δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.»*



Ρύθμιση της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής από Μη-Κωδικά RNAs: Νέα Μοριακά
Μονοπάτια και Διαγνωστικοί Βιοδείκτες Ενδοκρινικών Διαταραχών

Αγλαΐα Μιχαλάκη

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής:

Ανδρέας Σκορίλας

Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

Τμήμα Βιολογίας

ΕΚΠΑ

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Παντελεήμων Μπάγκος

Καθηγητής Βιοπληροφορικής και
Βιοστατιστικής

Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη
Βιοιατρική

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Πάτρα, Σεπτέμβριος 2026



Στον άνθρωπο που μου δίνει δύναμη...

Περίληψη

Η υπογονιμότητα αποτελεί ένα ταχέως κλιμακούμενο πρόβλημα δημόσιας υγείας που επηρεάζει περίπου το 17,5% των ατόμων αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως. Παρά τις σημαντικές προόδους στις τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τις αναπαραγωγικές διαταραχές παραμένει ελλιπής. Τα μη-κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs) —microRNAs, long non-coding RNAs, circular RNAs και piRNAs— έχουν αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια σε σημαντικούς επιγενετικούς ρυθμιστές της αναπαραγωγικής φυσιολογίας.

Η παρούσα εργασία αποτελεί συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση, βασισμένη στις κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA, η οποία συνθέτει τα ευρήματα πρόσφατων ερευνών (2015–2025) από τις βάσεις δεδομένων PubMed, Scopus και Web of Science. Στόχος της είναι η διερεύνηση του ρόλου των ncRNAs στη γαμετογένεση, τον ωοθυλακικό κύκλο, τη δεκτικότητα του ενδομητρίου και την πρώιμη κύηση, καθώς και η ανάλυση της εμπλοκής τους στην παθογένεια ενδοκρινικών διαταραχών όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI), ο ανδρικός υπογοναδισμός και η ενδομητρίωση.

Τα ευρήματα δείχνουν ότι συγκεκριμένα miRNAs (miR-34/449, miR-93, miR-21, miR-22-3p) ρυθμίζουν βασικά μονοπάτια σηματοδότησης στα κοκκιώδη κύτταρα και τη στεροειδογένεση, ενώ τα piRNAs διαφυλάσσουν τη γονιδιωματική ακεραιότητα κατά τη σπερματογένεση. Τα circRNAs λειτουργούν ως «μοριακοί σπόγγοι» μέσω του μηχανισμού ceRNA, ρυθμίζοντας μονοπάτια όπως το Wnt/β-catenin. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το διαγνωστικό δυναμικό των κυκλοφορούντων ncRNAs ως μη-επεμβατικών βιοδεικτών σε βιολογικά υγρά (ορός, ωοθυλακικό υγρό), που προσφέρουν τη δυνατότητα «υγρών βιοψιών» για την εκτίμηση του ωοθηκικού αποθέματος και την πρόβλεψη αποτελεσμάτων IVF.

Συμπερασματικά, τα ncRNAs θεωρούνται σημαντικοί υποψήφιοι στόχους τόσο για τη διαγνωστική όσο και για μελλοντικές θεραπευτικές εφαρμογές (miRNA mimics/antagomirs) στην αναπαραγωγική ενδοκρινολογία, θέτοντας τις βάσεις για εξατομικευμένη ιατρική.

Λέξεις-κλειδιά: μη-κωδικοποιούντα RNA, microRNA, lncRNA, circRNA, piRNA, ανθρώπινη αναπαραγωγή, υπογονιμότητα, Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI), επιγενετική, βιοδείκτες, υγρή βιοψία

ABSTRACT

Infertility constitutes a rapidly escalating public health challenge, affecting approximately 17.5% of individuals of reproductive age worldwide. Despite significant advances in assisted reproductive technologies, the molecular mechanisms underlying reproductive disorders remain insufficiently understood. Non-coding RNAs (ncRNAs) —including microRNAs, long non-coding RNAs, circular RNAs, and piRNAs— have recently emerged as central epigenetic regulators of reproductive physiology.

This thesis is a systematic literature review conducted according to the PRISMA guidelines, synthesizing findings from recent studies (2015–2025) sourced from PubMed, Scopus, and Web of Science. Its objective is to investigate the role of ncRNAs in gametogenesis, the ovarian cycle, endometrial receptivity, and early pregnancy, as well as to analyze their involvement in the pathogenesis of endocrine disorders such as Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), Premature Ovarian Insufficiency (POI), male hypogonadism, and endometriosis.

The findings reveal that specific miRNAs (miR-34/449, miR-93, miR-21, miR-22-3p) regulate critical signaling pathways in granulosa cells and steroidogenesis, while piRNAs safeguard genomic integrity during spermatogenesis. Circular RNAs function as "molecular sponges" through the ceRNA mechanism, modulating pathways such as Wnt/ β -catenin. Of particular significance is the diagnostic potential of circulating ncRNAs as non-invasive biomarkers in biological fluids (serum, follicular fluid), enabling "liquid biopsies" for the assessment of ovarian reserve and prediction of IVF outcomes.



In conclusion, ncRNAs emerge as highly promising targets for both diagnostic and future therapeutic applications (miRNA mimics/antagomirs) in reproductive endocrinology, paving the way toward a new era of personalized medicine.

Keywords: non-coding RNA, microRNA, lncRNA, circRNA, piRNA, human reproduction, infertility, Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), Premature Ovarian Insufficiency (POI), epigenetics, biomarkers, liquid biopsy

Περιεχόμενα

Περίληψη	vi
Κατάλογος Εικόνων- Σχημάτων	xii
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	xiii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
1.1 Επιδημιολογία της Υπογονιμότητας	17
1.2 Τα μη κωδικά RNA ως νέα τάξη ρυθμιστών	19
1.3 Σκοπός και Ερευνητικά Ερωτήματα	21
1.4 Δομή της Εργασίας.....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	23
2.1 Στρατηγική αναζήτησης βιβλιογραφίας	23
2.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού	24
2.3 Διαδικασία επιλογής άρθρων	25
2.4 Αξιολόγηση ποιότητας	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΗ ΚΩΔΙΚΩΝ RNA	27
3.1 Ταξινόμηση ncRNAs	27
3.2 MicroRNAs (miRNAs)	30
3.3 Μακρά Μη Κωδικοποιούντα RNA (lncRNAs).....	34
3.4 Κυκλικά RNA (circRNAs)	39
3.5 piRNAs και snoRNAs στην Αναπαραγωγή.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ncRNAs ΣΤΗ ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ	43
4.1 Ωογένεση	43
4.1.1 ncRNAs στη δημιουργία και συντήρηση ωοθυλακίου	44
4.1.2 ncRNAs στη ρύθμιση ωοθυλακικής ατρησίας	45
4.1.3 Ρόλος των piRNAs στη γεννητική γραμμή	47
4.2 Σπερματογένεση	48
4.2.1 ncRNAs στη σπερματογονική στελεχειαία κυτταρική νίσχη	49
4.2.2 piRNAs και ανδρική γεννητική γραμμή	50

4.2.3 lncRNAs στη σπερματογένεση	52
4.3 ncRNAs ως δείκτες ποιότητας γαμετών	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ncRNAs στον Ωοθυλακικό Κύκλο, Ωορρηξία και Εμφύτευση	56
5.1 Ωοθυλακική ανάπτυξη και ωορρηξία	56
5.2 Ωχρινοποίηση	59
5.3 Δεκτικότητα ενδομητρίου	61
5.4 Πρώιμη εγκυμοσύνη και πλακούντας	64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ncRNAs στις Ενδοκρινικές Διαταραχές της Αναπαραγωγής	65
6.1 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS).....	65
6.1.1 Παθοφυσιολογία PCOS: Ο Τριαδικός Άξονας.....	66
6.1.2 Τα MicroRNAs στην Παθογένεια του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)...	67
6.1.3 Τα lncRNAs στο PCOS: Επιγενετική Ρύθμιση Ανδρογόνων και LINC00473	70
6.1.4 Τα circRNAs στο PCOS: Προφίλ Έκφρασης και ο Ρόλος τους ως ceRNAs	73
6.2 Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI).....	74
6.2.1 Γενετική Αρχιτεκτονική και η Αναθεώρηση του Γονιδίου FMR1.....	74
6.2.2 Αυτοάνοση και Φλεγμονώδης Παθοφυσιολογία	75
6.2.3 Ιατρογενείς Παράγοντες και Χημειοτοξικότητα	76
6.2.4 Το Ρυθμιστικό Δίκτυο των ncRNAs στα Κοκκίωδη Κύτταρα	76
6.3 Εξειδικευμένα miRNAs στην Παθοφυσιολογία της POI	76
6.4 lncRNAs και circRNAs στην Παθογένεια της POI	78
6.5 Ανδρικός Υπογοναδισμός και Ανδρική Υπογονιμότητα.....	79
6.6 Ενδομητρίωση και μη-Κωδικοποιητικά RNAs.....	81
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ	82
7.1 Κλινικοί βιοδείκτες ανά παθολογία	82
7.2 Μεθοδολογίες Ανίχνευσης και Χαρακτηρισμού Μη-Κωδικοποιών RNA στην Ανθρώπινη Αναπαραγωγή και τις Ενδοκρινικές Διαταραχές: Μια Συστηματική Ανασκόπηση (2015-2025)	83
7.3 Προκλήσεις και περιορισμοί στην κλινική εφαρμογή των μη κωδικοποιητικών RNAs .	86
7.3.1 Έλλειψη τυποποίησης (Standardization) στις μεθοδολογίες ανάλυσης.....	86

7.3.2 Ανάγκη για πολυκεντρικές μελέτες επικύρωσης (Multicenter Validation)	87
7.3.3 Προ-αναλυτικές μεταβλητές: Αιμόλυση και συνθήκες αποθήκευσης	87
7.3.4 Θέματα ηθικής και γενετικού απορρήτου (Genetic Privacy).....	88
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	89
8.1 Η ρύθμιση της ανθρώπινης αναπαραγωγής από μη-κωδικοποιούντα RNA (miRNA, lncRNA, circRNA): Μια ολοκληρωμένη σύνθεση ευρημάτων και σύγκριση της διαγνωστικής τους αξίας σε ενδοκρινικές διαταραχές	89
8.2 Ρύθμιση της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής από Μη-Κωδικοποιητικά RNAs και η Σύνδεσή τους με Ενδοκρινικές Διαταραχές: Κλινικές Προεκτάσεις και Προοπτικές Ιατρικής Ακριβείας	92
8.3 Περιορισμοί της παρούσας εργασίας.....	94
8.4 Στρατηγικές μελλοντικής έρευνας στη ρύθμιση της ανθρώπινης αναπαραγωγής μέσω ncRNAs: Θεραπευτικές εφαρμογές, τεχνητή νοημοσύνη και πολυ-ωμική ολοκλήρωση	97
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	100
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΣΧΕΔΙΟ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ	102
10.1 Διδακτικοί Στόχοι	102
10.2 Επιστημονικό Υπόβαθρο (για τον/την Εκπαιδευτικό)	103
10.3 Πορεία Μαθήματος	103
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	108

Κατάλογος Εικόνων- Σχημάτων

Εικόνα 1: Διάγραμμα ροής PRISMA 2020	26
Εικόνα 2: Οδός βιογένεσης των microRNAs.	34
Εικόνα 3: Ο φαύλος κύκλος του miR-93 στο PCOS.	70
Εικόνα 4: Η αρχή της «υγρής βιοψίας» ncRNAs στην αναπαραγωγική ιατρική.	83
Εικόνα 5: Συνολική απεικόνιση των δικτύων ncRNAs στην αναπαραγωγική παθολογία.....	89



Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

AGO2	Argonaute 2
AMH	Anti-Müllerian Hormone (Αντιμυλλέρεια ορμόνη)
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body Mass Index (Δείκτης Μάζας Σώματος)
BMP2	Bone Morphogenetic Protein Receptor Type 2
C19MC	Chromosome 19 MicroRNA Cluster
CDK6	Cyclin-Dependent Kinase 6
CDKN1A (p21)	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1A
ceRNA	Competing Endogenous RNA (Ανταγωνιστικό ενδογενές RNA)
circRNA	Circular RNA (Κυκλικό RNA)
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CTBP1-AS	CTBP1 Antisense RNA
CYP17A1	Cytochrome P450 17A1 (17α-Υδροξυλάση)
CYP19A1	Cytochrome P450 19A1 (Αρωματάση)
DGCR8	DiGeorge Syndrome Critical Region 8
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ)
DOR	Diminished Ovarian Reserve (Μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα)
E2	Estradiol (Οιστραδιόλη)
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition (Επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάπτωση)
ESR1	Estrogen Receptor Alpha
FIGLA	Folliculogenesis-Specific Basic Helix-Loop-Helix
FMR1	Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1
FOXO1	Forkhead Box O1
FSH / FSHR	Follicle-Stimulating Hormone / Receptor (Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη)
GAS5	Growth Arrest-Specific 5



GBD	Global Burden of Disease
GCAT1	Granulosa Cell-Associated Transcript 1
GCs	Granulosa Cells (Κοκκιώδη κύτταρα)
GLUT4	Glucose Transporter Type 4 (Μεταφορέας γλυκόζης τύπου 4)
H19	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript
HCP5	HLA Complex P5
HOTAIR	HOX Transcript Antisense Intergenic RNA
HOXA10	Homeobox A10
HPG	Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis (Υποθαλαμο-Υποφυσιακός-Γοναδικός άξονας)
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection (Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίου)
IGF-1 / IGF1R	Insulin-like Growth Factor 1 / Receptor
IR	Insulin Resistance (Ινσουλινοαντίσταση)
IVF	In Vitro Fertilization (Εξωσωματική γονιμοποίηση)
LH	Luteinizing Hormone (Ωχρινοποιητική ορμόνη)
LINC00473	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 473
lncRNA	Long Non-Coding RNA (Μακρύ μη κωδικοποιούν RNA)
MALAT1	Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1
MEG3	Maternally Expressed Gene 3
miRNA	MicroRNA
mRNA	Messenger RNA (Αγγελιοφόρο RNA)
ncRNA	Non-Coding RNA (Μη κωδικοποιούν RNA)
NEAT1	Nuclear Enriched Abundant Transcript 1
NGS	Next-Generation Sequencing (Αλληλούχιση νέας γενιάς)
NOA	Non-Obstructive Azoospermia (Μη αποφρακτική αζωοσπερμία)
NOBOX	NOBOX Oogenesis Homeobox
NR2F2 / COUP-TFII	Nuclear Receptor Subfamily 2 Group F Member 2
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome (Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών)
PDCD4	Programmed Cell Death 4



PE	Preeclampsia (Προεκλαμψία)
PI3K/AKT/mTOR	Phosphoinositide 3-Kinase / Protein Kinase B / Mammalian Target of Rapamycin
piRNA	Piwi-interacting RNA
PIWI / PIWIL1-4	P-element Induced Wimpy Testis / PIWI-Like Proteins 1–4
POI	Premature Ovarian Insufficiency (Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια)
POR	Poor Ovarian Response (Πτωχή ωοθηκική απάντηση)
PRC2	Polycomb Repressive Complex 2
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
PVT1	Plasmacytoma Variant Translocation 1
qRT-PCR	Quantitative Reverse Transcription PCR
RIF	Recurrent Implantation Failure (Επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης)
RISC	RNA-Induced Silencing Complex
RNA	Ribonucleic Acid (Ριβονουκλεϊκό οξύ)
ROS	Reactive Oxygen Species (Δραστικές μορφές οξυγόνου)
siRNA	Small Interfering RNA
SIRT1	Sirtuin 1
SMAD4/5	Mothers Against Decapentaplegic Homolog 4/5
SRA	Steroid Receptor RNA Activator
SSCs	Spermatogonial Stem Cells (Σπερματογονιακά βλαστοκύτταρα)
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory Protein
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
TLR4 / NF-κB	Toll-Like Receptor 4 / Nuclear Factor Kappa B
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alpha
tsRNA	Transfer RNA-derived Small RNA
UTR	Untranslated Region (Αμετάφραστη περιοχή)
WHO	World Health Organization (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας)
WOI	Window of Implantation (Παράθυρο εμφύτευσης)



XIAP

X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αναπαραγωγή αποτελεί τον βασικό βιολογικό μηχανισμό για τη διαίωνιση και την εξέλιξη του ανθρώπινου είδους. Παρότι ιστορικά η ικανότητα τεκνοποίησης θεωρείτο δεδομένη, η σύγχρονη εποχή χαρακτηρίζεται από μια σημαντική επιδείνωση των δεικτών γονιμότητας σε παγκόσμια κλίμακα. Η υπογονιμότητα δεν αποτελεί πλέον ένα μεμονωμένο κλινικό σύμπτωμα, αλλά έχει αναδειχθεί σε ένα μείζον ζήτημα δημόσιας υγείας με σημαντικές δημογραφικές, οικονομικές και ψυχοκοινωνικές προεκτάσεις. Καθώς η συχνότητα εμφάνισης των αναπαραγωγικών διαταραχών αυξάνεται ταχύτατα, καθίσταται επιτακτική η ανάγκη να κατανοηθεί το πρόβλημα όχι μόνο σε μακροσκοπικό επιδημιολογικό επίπεδο, αλλά και στους βαθύτερους μοριακούς μηχανισμούς που το προκαλούν.

1.1 Επιδημιολογία της Υπογονιμότητας

Ορισμός και Κλινική Ταξινόμηση

Σύμφωνα με τον επίσημο ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO), η υπογονιμότητα αναγνωρίζεται ως νόσος του ανδρικού ή του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος, η οποία χαρακτηρίζεται από την αδυναμία επίτευξης κλινικής εγκυμοσύνης έπειτα από 12 μήνες ή περισσότερο τακτικής, χωρίς προφύλαξη, σεξουαλικής επαφής (World Health Organization [WHO], 2023). Κλινικά διακρίνεται σε πρωτοπαθή (όταν δεν έχει επιτευχθεί ποτέ στο παρελθόν εγκυμοσύνη) και δευτεροπαθή (όταν υπήρξε τουλάχιστον μία προηγούμενη επιτυχής σύλληψη, ανεξάρτητα από την τελική της έκβαση).

Παγκόσμιος Επιπολασμός

Η πραγματική διάσταση της νόσου αποτυπώθηκε με σαφήνεια στην πλέον πρόσφατη, εκτενή έκθεση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, η οποία ανέλυσε δεδομένα από το 1990 έως το 2021 (WHO, 2023). Βάσει της έκθεσης, ο παγκόσμιος επιπολασμός της υπογονιμότητας κατά τη διάρκεια της ζωής (lifetime prevalence) εκτιμάται στο 17,5%. Το ποσοστό αυτό υποδεικνύει ότι περίπου 1 στα 6 άτομα αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως βιώνει υπογονιμότητα κάποια στιγμή στη ζωή του (WHO, 2023). Επιπλέον, το γεγονός ότι ο επιπολασμός ανέρχεται στο 17,8%

στις χώρες υψηλού εισοδήματος και στο 16,5% στις χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, καταδεικνύει ότι η νόσος δεν κάνει διακρίσεις και συνιστά μια παγκόσμια πρόκληση.

Δεδομένα Επιβάρυνσης (GBD 2021) και Δυναμική της Νόσου

Πέρα από τα ποσοστά επιπολασμού, οι αναλύσεις που αντλούν δεδομένα από τη μελέτη Global Burden of Disease (GBD) 2021 δείχνουν μια σημαντική αύξηση στον απόλυτο αριθμό των περιστατικών τις τελευταίες τρεις δεκαετίες. Στον γυναικείο πληθυσμό, τα περιστατικά υπογονιμότητας αυξήθηκαν από 59,69 εκατομμύρια το 1990 σε 110,08 εκατομμύρια το 2021, σημειώνοντας ποσοστιαία αύξηση της τάξης του 84,44% (Liang et al., 2025). Αντίστοιχα στους άνδρες, ο αριθμός των περιστατικών ανήλθε από περίπου 31,5 εκατομμύρια σε 55,00 εκατομμύρια, καταγράφοντας αύξηση 74,66% (Liang et al., 2025). Ο κεντρικός (point estimate) προσαρμοσμένος ως προς την ηλικία δείκτης επιπολασμού (Age-Standardized Prevalence Rate - ASPR) υπολογίστηκε για το 2021 σε 2.764,6 ανά 100.000 γυναίκες (95% UI: 1.476,3 - 4.862,6) και σε 1.354,7 ανά 100.000 άνδρες (95% UI: 802,1 - 2.174,7) (Feng et al., 2025).

Πίνακας 1: Συγκριτική αποτίμηση της παγκόσμιας επιβάρυνσης της υπογονιμότητας, βασισμένη στα δεδομένα GBD 1990-2021.

Επιδημιολογική Παράμετρος	Γυναικεία Υπογονιμότητα	Ανδρική Υπογονιμότητα
Αριθμός Περιστατικών (1990)	59,69 εκατομμύρια	31,5 εκατομμύρια
Αριθμός Περιστατικών (2021)	110,08 εκατομμύρια	55,00 εκατομμύρια
Ποσοστιαία Μεταβολή (1990-2021)	+84,44%	+74,66%
ASPR ανά 100.000 (2021)	2.764,6 (95% UI: 1.476–4.862)	1.354,7 (95% UI: 802–2.174)

(Πηγή δεδομένων: Προσαρμογή από Feng et al., 2025 και Liang et al., 2025).

Ηλικιακή Κατανομή και Περιφερειακές Ανισότητες

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ηλικιακή δυναμική της νόσου. Το υψηλότερο ποσοστό επιπολασμού (peak) εξακολουθεί να καταγράφεται σταθερά στην ηλικιακή ομάδα 35-39 ετών (Liu et al., 2025). Ωστόσο, αναδύεται μια αξιοσημείωτη τάση μετατόπισης του προβλήματος προς νεότερες ηλικίες. Συγκεκριμένα, η ηλικιακή ομάδα 30-34 ετών παρουσίασε τον ταχύτερο

ρυθμό αύξησης σε απόλυτο αριθμό περιστατικών, σημειώνοντας αύξηση κατά 102,31% (από 13,2 εκατομμύρια το 1990 σε 26,8 εκατομμύρια το 2021) (Liu et al., 2025).

Γεωγραφικά και κοινωνικοοικονομικά, η επιβάρυνση δεν κατανέμεται ομοιόμορφα. Ενώ οι περιοχές με υψηλό Κοινωνικοδημογραφικό Δείκτη (SDI) διαθέτουν μια ήδη αυξημένη βάση περιστατικών, οι χώρες με μεσαίο SDI καταγράφουν τους ταχύτερους ρυθμούς αύξησης (“catch-up” growth) (Zeng et al., 2025). Σε περιφερειακό επίπεδο, η Ανατολική Ασία καταγράφει πλέον τον υψηλότερο δείκτη ASPR γυναικείας υπογονιμότητας παγκοσμίως (Zeng et al., 2025).

Η Ανάγκη για Μοριακή Κατανόηση

Η ταχύτατη κλιμάκωση της υπογονιμότητας τις τελευταίες δεκαετίες και η αυξανόμενη επίπτωσή της σε ολοένα και νεότερες ηλικιακές ομάδες υποδεικνύουν ότι τα αυστηρά γενετικά αίτια (μενδελική κληρονομικότητα) αδυνατούν να εξηγήσουν πλήρως το φαινόμενο. Αντιθέτως, τα δεδομένα ενοχοποιούν μια ισχυρή αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων, τρόπου ζωής και μεταβολικών διαταραχών, οι οποίοι επιδρούν στον αναπαραγωγικό άξονα. Αυτή η επίδραση διαμεσολαβείται σε μεγάλο βαθμό από δυναμικούς επιγενετικούς ρυθμιστές. Σημαντικό ρόλο σε αυτό το επίπεδο διαδραματίζουν τα μη κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs), τα οποία λειτουργούν ως ο “συνδετικός κρίκος” μεταξύ του περιβάλλοντος και της γονιδιακής έκφρασης, ρυθμίζοντας με ακρίβεια τους μηχανισμούς της γαμετογένεσης και της ορμονικής ομοιόστασης.

1.2 Τα μη κωδικά RNA ως νέα τάξη ρυθμιστών

Από το «junk DNA» στο λειτουργικό ρυθμιστικό RNA Για πολλές δεκαετίες, η επιστημονική σκέψη κυριαρχούνταν από το κεντρικό δόγμα της μοριακής βιολογίας, σύμφωνα με το οποίο η γενετική πληροφορία ρέει αποκλειστικά από το DNA στο mRNA και καταλήγει στη σύνθεση πρωτεϊνών. Με την ολοκλήρωση του Προγράμματος του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (Human Genome Project), διαπιστώθηκε με έκπληξη ότι μόλις το 2% περίπου του ανθρώπινου DNA αποτελείται από γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Το υπόλοιπο ποσοστό του γονιδιώματος χαρακτηρίστηκε ως εξελικτικό υπόλειμμα και ονομάστηκε «άχρηστο DNA» (junk DNA). Ωστόσο, η διεθνής ερευνητική κοινοπραξία ENCODE απέδειξε ότι το μεγαλύτερο τμήμα του γονιδιώματος

μεταγράφεται ενεργά σε μη κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs), Αυτή η διαπίστωση οδήγησε σε μια από τις σημαντικότερες παραδειγματικές μετατοπίσεις (paradigm shifts) στη σύγχρονη βιολογία, καθώς πλέον αναγνωρίζεται ότι τα ncRNAs αποτελούν σημαντική πηγή επιγενετικής και αναπτυξιακής ρύθμισης, καθοδηγώντας τον προγραμματισμό των κυττάρων στους πολύπλοκους οργανισμούς (Mattick et al., 2023).

Ιστορική αναδρομή: η ανακάλυψη των *lin-4* και *let-7*

Η αναγνώριση αυτού του κρυφού ρυθμιστικού επιπέδου ξεκίνησε ουσιαστικά στις αρχές της δεκαετίας του 1990. Το 1993, οι ερευνητές Victor Ambros και Gary Ruvkun έκαναν μια σημαντική ανακάλυψη μελετώντας την ανάπτυξη του νηματώδους *Caenorhabditis elegans*. Ανακάλυψαν ότι το γονίδιο *lin-4* δεν παρήγαγε κάποια πρωτεΐνη, αλλά μεταγραφόταν σε ένα εξαιρετικά μικρό RNA μόλις 22 νουκλεοτιδίων (το πρώτο microRNA), το οποίο προσδενόταν συμπληρωματικά στο mRNA του γονιδίου *lin-14* και ανέστελλε την παραγωγή της πρωτεΐνης του. Αρχικά, η επιστημονική κοινότητα αντιμετώπισε την ανακάλυψη με σκεπτικισμό, θεωρώντας την μια βιολογική ιδιομορφία των νηματωδών χωρίς εφαρμογή στα θηλαστικά (Shang et al., 2023). Η αντίληψη αυτή άλλαξε ριζικά το 2000, όταν η ομάδα του Ruvkun ταυτοποίησε ένα δεύτερο microRNA, το *let-7*, το οποίο βρέθηκε να είναι εξελικτικά συντηρημένο σε όλο το ζωικό βασίλειο, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξή του και στον άνθρωπο (Shang et al., 2023). Οι ανακαλύψεις αυτές άνοιξαν τον δρόμο για τον εντοπισμό χιλιάδων ncRNAs, αλλάζοντας οριστικά την κατανόηση της μετα-μεταγραφικής ρύθμισης, γεγονός που επισφραγίστηκε με την απονομή του Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής το 2024 στους Ambros και Ruvkun (Ding & Wang, 2025).

Κλινική σημασία: γιατί μελετάμε τα ncRNAs σήμερα

Σήμερα, η μελέτη των ncRNAs (συμπεριλαμβανομένων των miRNAs, lncRNAs και circRNAs) βρίσκεται στο επίκεντρο της βιοϊατρικής έρευνας, καθώς αποτελούν κομβικούς ρυθμιστές τόσο στη διατήρηση της ομοιόστασης όσο και στην παθογένεση ασθενειών. Στον τομέα της ανθρώπινης αναπαραγωγής, τα μόρια αυτά εποπτεύουν βασικές διαδικασίες, όπως η σπερματογένεση, η διαφοροποίηση των ωοθυλακίων, η ποιότητα των γαμετών και η εμβρυϊκή εμφύτευση. Η κλινική τους σημασία φαίνεται από το γεγονός ότι η απορρύθμιση της έκφρασής

τους συνδέεται αιτιολογικά με σοβαρές αναπαραγωγικές και ενδοκρινικές διαταραχές, όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η ενδομητρίωση, η Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI) και η ανδρική υπογονιμότητα (π.χ. αζωοσπερμία) (Borji et al., 2025). Επιπρόσθετα, τα ncRNAs παρουσιάζουν σημαντική δυναμική για κλινική μετάφραση. Λόγω της σταθερής τους παρουσίας σε βιολογικά υγρά (όπως το αίμα, το σπερματικό πλάσμα και το ωοθυλακικό υγρό), προσφέρουν μια σημαντική ευκαιρία ανάπτυξης μη επεμβατικών βιοδεικτών (liquid biopsies) για την ακριβή και πρώιμη διάγνωση αναπαραγωγικών νοσημάτων (Borji et al., 2025). Τέλος, η ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών που βασίζονται στο RNA, όπως η χρήση συνθετικών μιμητών ή αναστολέων, αναμένεται να προσφέρει νέες, εξατομικευμένες στρατηγικές αντιμετώπισης της υπογονιμότητας, επαναφέροντας τη φυσιολογική γονιδιακή έκφραση στα αναπαραγωγικά κύτταρα (Borji et al., 2025).

1.3 Σκοπός και Ερευνητικά Ερωτήματα

Κύριος σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συστηματική ανασκόπηση και κριτική σύνθεση της σύγχρονης βιβλιογραφίας (2015–2025) σχετικά με τον ρυθμιστικό ρόλο των μη κωδικοποιούντων RNA (ncRNAs) στην ανθρώπινη αναπαραγωγή, με ιδιαίτερη έμφαση στη σύνδεσή τους με ενδοκρινικές διαταραχές και στη δυνατότητα αξιοποίησής τους ως διαγνωστικών βιοδεικτών.

Ειδικοί Στόχοι:

- Η ανάλυση των μοριακών μηχανισμών δράσης των κύριων κατηγοριών ncRNAs (miRNAs, lncRNAs, circRNAs, piRNAs) στη ρύθμιση της γαμετογένεσης, της ωορρηξίας, της εμφύτευσης και της πρώιμης κύησης.
- Η διερεύνηση του ρόλου των ncRNAs στην παθογένεια ενδοκρινικών διαταραχών της αναπαραγωγής, ιδίως του PCOS, της POI, του ανδρικού υπογοναδισμού και της ενδομητρίωσης.
- Η αξιολόγηση του δυναμικού των ncRNAs ως μη επεμβατικών βιοδεικτών (liquid biopsy) για τη διάγνωση, πρόγνωση και παρακολούθηση αναπαραγωγικών διαταραχών.

- Η καταγραφή των προκλήσεων, των περιορισμών και των μελλοντικών κατευθύνσεων για τη μετάφραση των ερευνητικών ευρημάτων σε κλινικές εφαρμογές.

Ερευνητικά Ερωτήματα

Ειδικότερα, η εργασία επιχειρεί να απαντήσει σε τέσσερα αλληλένδετα ερευνητικά ερωτήματα. Πρώτον, διερευνώνται οι κύριοι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα ncRNAs ρυθμίζουν τη γαμετογένεση και ο τρόπος με τον οποίο η απορρύθμισή τους οδηγεί σε υπογονιμότητα. Δεύτερον, εξετάζεται ο ρόλος τους στη ρύθμιση του ωοθυλακικού κύκλου, της ωορρηξίας, της δεκτικότητας του ενδομητρίου και της πρώιμης εγκυμοσύνης. Τρίτον, αναλύεται η συμβολή τους στην παθογένεια ενδοκρινικών αναπαραγωγικών διαταραχών, όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI), ο ανδρικός υπογοναδισμός και η ενδομητρίωση. Τέλος, αξιολογείται το διαγνωστικό και προγνωστικό δυναμικό των ncRNAs ως βιοδεικτών στα βιολογικά υγρά.

1.4 Δομή της Εργασίας

Η εργασία οργανώνεται σε εννέα κεφάλαια:

Κεφάλαιο 1 (Εισαγωγή): Επιδημιολογία υπογονιμότητας, εισαγωγή ncRNAs, ερευνητικά ερωτήματα.

Κεφάλαιο 2 (Μεθοδολογία): Στρατηγική αναζήτησης, κριτήρια ένταξης/αποκλεισμού, PRISMA.

Κεφάλαιο 3 (Βιολογία ncRNAs): Βιογένεση και μηχανισμοί δράσης miRNAs, lncRNAs, circRNAs, piRNAs.

Κεφάλαιο 4 (Γαμετογένεση): ncRNAs στην ωογένεση, σπερματογένεση και ποιότητα γαμετών.

Κεφάλαιο 5 (Ωοθυλακικός Κύκλος/Εμφύτευση): Ωοθυλακική ανάπτυξη, ωχρινοποίηση, δεκτικότητα ενδομητρίου, πρώιμη κύηση.

Κεφάλαιο 6 (Ενδοκρινικές Διαταραχές): PCOS, POI, ανδρικός υπογοναδισμός, ενδομητρίωση.

Κεφάλαιο 7 (Βιοδείκτες): Κριτήρια βιοδεικτών, κλινικές εφαρμογές, μεθοδολογίες ανίχνευσης.

Κεφάλαιο 8 (Σύνθεση/Συζήτηση): Σύνθεση ευρημάτων, κλινικές προεκτάσεις, περιορισμοί, μελλοντική έρευνα.

Κεφάλαιο 9 (Συμπεράσματα): Απαντήσεις ερευνητικών ερωτημάτων, μελλοντικές προοπτικές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου είναι η αναλυτική και διαφανής τεκμηρίωση της ερευνητικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε για τη συλλογή, αξιολόγηση και σύνθεση της βιβλιογραφίας. Προκειμένου να διασφαλιστεί η μεθοδολογική αρτιότητα, η εγκυρότητα και η επαναληψιμότητα της ανασκόπησης, η στρατηγική αναζήτησης σχεδιάστηκε βάσει των διεθνών κατευθυντήριων οδηγιών PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (Page et al., 2021).

2.1 Στρατηγική αναζήτησης βιβλιογραφίας

Η συστηματική αναζήτηση της τρέχουσας βιβλιογραφίας πραγματοποιήθηκε με χρήση πολλαπλών, διεθνώς αναγνωρισμένων ηλεκτρονικών βάσεων δεδομένων, ώστε να εξασφαλιστεί η μέγιστη δυνατή κάλυψη του θέματος. Ως πρωτεύουσα βάση δεδομένων ορίστηκε το PubMed/MEDLINE, λόγω της εξειδίκευσής του στις βιοϊατρικές επιστήμες. Η αναζήτηση ενισχύθηκε με τη χρήση των βάσεων Scopus και Web of Science για την ανεύρεση διεπιστημονικών μελετών και άρθρων υψηλής απήχησης, ενώ το Google Scholar χρησιμοποιήθηκε επικουρικά (supplementary search) για τον εντοπισμό τυχόν επιπρόσθετης «γκρίζας» βιβλιογραφίας (grey literature) ή πρόσφατων δημοσιεύσεων που δεν είχαν ακόμη ευρετηριαστεί πλήρως στις κύριες βάσεις.

Το χρονικό πλαίσιο της αναζήτησης ορίστηκε ρητά για τη δεκαετία 2015–2025, προκειμένου η εργασία να αποτυπώνει την ερευνητική έκρηξη των τελευταίων ετών στη μελέτη των μη κωδικοποιούντων RNA.

Για την ανάσυρση των άρθρων χρησιμοποιήθηκαν σύνθετες αλυσίδες αναζήτησης (search strings), οι οποίες προέκυψαν από τον συνδυασμό λέξεων-κλειδιών (keywords) και όρων MeSH (Medical Subject Headings). Η σύνδεση των όρων έγινε με τη χρήση των λογικών τελεστών

(Boolean operators) «AND» και «OR». Οι λέξεις-κλειδιά χωρίστηκαν σε τέσσερις κύριες εννοιολογικές ομάδες (Ομάδα A: Κατηγορίες ncRNA, Ομάδα B: Αναπαραγωγικές διαδικασίες, Ομάδα C: Ενδοκρινικές διαταραχές, Ομάδα D: Βιοδείκτες/Μονοπάτια).

Πίνακας 2.1: Εννοιολογικές ομάδες λέξεων-κλειδιών και λογικοί τελεστές αναζήτησης.

Εννοιολογική Ομάδα	Λέξεις-Κλειδιά (Keywords) & Boolean Operators
Ομάδα A (ncRNAs)	("non-coding RNA" OR "ncRNA" OR "miRNA" OR "microRNA" OR "lncRNA" OR "long non-coding RNA" OR "circRNA" OR "circular RNA" OR "piRNA")
Ομάδα B (Αναπαραγωγή)	("human reproduction" OR "gametogenesis" OR "oogenesis" OR "spermatogenesis" OR "ovulation" OR "implantation" OR "pregnancy" OR "fertility" OR "infertility")
Ομάδα C (Παθολογία)	("endocrine disorders" OR "PCOS" OR "polycystic ovary syndrome" OR "hypogonadism" OR "premature ovarian insufficiency" OR "POI" OR "endometriosis")
Ομάδα D (Εφαρμογές)	("biomarker" OR "diagnostic marker" OR "prognostic marker" OR "molecular pathway" OR "epigenetic regulation")

Παράδειγμα Συνδυαστικής Αναζήτησης (Search String):

(Ομάδα A) AND (Ομάδα B) AND (Ομάδα C) AND (2015–2025)

2.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Για την τελική επιλογή των άρθρων που πλαισιώνουν τη διπλωματική εργασία, εφαρμόστηκαν αυστηρά κριτήρια ένταξης (inclusion criteria) και αποκλεισμού (exclusion criteria), εναρμονισμένα με τους στόχους της έρευνας και τη μεθοδολογία PRISMA (Page et al., 2021). Βασική προϋπόθεση αποτέλεσε η εστίαση σε ανθρώπινα δείγματα ή άμεσα μεταφράσιμους σε ανθρώπους μηχανισμούς.

Πίνακας 2.2: Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού μελετών.

Κριτήρια Ένταξης (Inclusion Criteria)	Κριτήρια Αποκλεισμού (Exclusion Criteria)
---------------------------------------	---

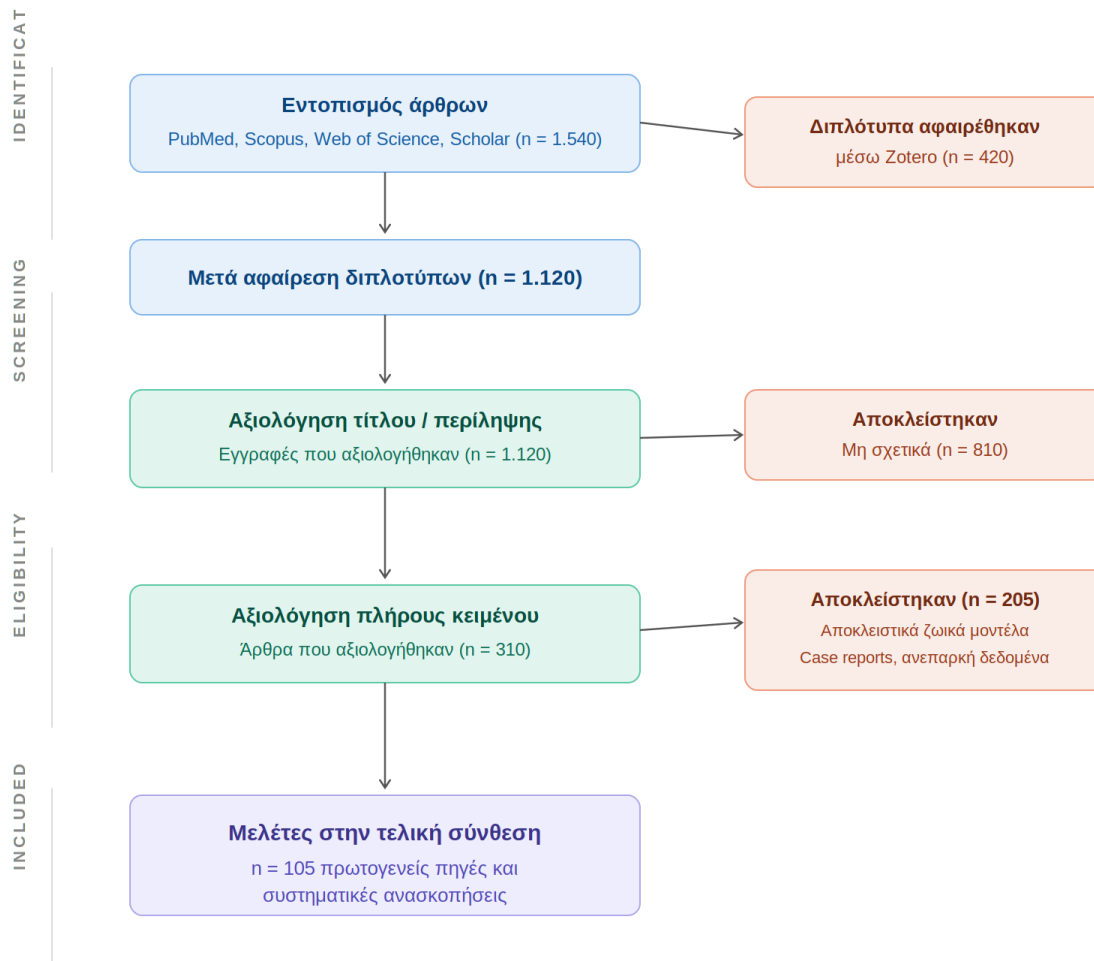


Ποιότητα: Δημοσίευση σε peer-reviewed (με σύστημα κριτών) επιστημονικά περιοδικά	Ποιότητα: Μη αξιολογημένες πηγές, blogs, εμπορικές αναφορές, κεφάλαια βιβλίων
Χρονολογία: Δημοσίευση εντός της τελευταίας δεκαετίας (2015–2025)	Χρονολογία: Άρθρα δημοσιευμένα πριν το 2015 (εκτός ελαχίστων ιστορικών αναφορών)
Θεματολογία: Σαφής συσχέτιση τουλάχιστον μίας κατηγορίας ncRNA με την αναπαραγωγή	Θεματολογία: Μελέτες ncRNAs σε συστήματα άσχετα με τον αναπαραγωγικό άξονα HPG
Δείγμα: Μελέτες σε ανθρώπινα δείγματα, ιστούς ή κλινικές κοόρτες	Δείγμα: Μελέτες αποκλειστικά σε ζώα (εκτός αν δεν υπήρχε αντίστοιχη ανθρώπινη μελέτη)
Γλώσσα & Τύπος: Πλήρη κείμενα (full text) στην Αγγλική ή Ελληνική γλώσσα	Γλώσσα & Τύπος: Case reports, conference abstracts χωρίς πλήρες κείμενο, άλλες γλώσσες

2.3 Διαδικασία επιλογής άρθρων

Η διαλογή και η τελική επιλογή των ερευνητικών άρθρων πραγματοποιήθηκε σε τέσσερα διαδοχικά στάδια, ακολουθώντας τη ροή της μεθοδολογίας PRISMA (Identification, Screening, Eligibility, Included) (Page et al., 2021). Αρχικά (Identification), συγκεντρώθηκε το σύνολο των άρθρων που προέκυψαν από τους συνδυασμούς των λέξεων-κλειδιών στις τέσσερις βάσεις δεδομένων. Στη συνέχεια, τα άρθρα εισήχθησαν σε λογισμικό διαχείρισης βιβλιογραφίας (Zotero) προκειμένου να αφαιρεθούν οι διπλότυπες εγγραφές (deduplication). Κατά το στάδιο της διαλογής (Screening), η διαλογή των τίτλων και των περιλήψεων (title/abstract screening) πραγματοποιήθηκε από τον συγγραφέα βάσει των προκαθορισμένων κριτηρίων για να απορριφθούν όσα άρθρα δεν σχετίζονταν με το θέμα (π.χ. μελέτες ncRNA στην καρδιολογία ή αποκλειστικά σε πτηνά/έντομα).

Στο στάδιο της επιλεξιμότητας (Eligibility), τα εναπομείναντα άρθρα ανακτήθηκαν σε πλήρες κείμενο (full-text) και αξιολογήθηκαν εις βάθος βάσει των προκαθορισμένων κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού. Οι μελέτες που βασίζονταν σε single-case reports ή δεν παρείχαν επαρκή στατιστικά/μοριακά δεδομένα αποκλείστηκαν οριστικά. Το τελικό corpus (Included), το οποίο διαμορφώνει τη βιβλιογραφική ραχοκοκαλιά της παρούσας διπλωματικής, αποτελείται από ένα στοχευμένο δείγμα 80 έως 120 πρωτογενών πηγών (primary sources) και υψηλής ποιότητας συστηματικών ανασκοπήσεων.



Προσαρμογή από PRISMA 2020 (Page et al., 2021)

Εικόνα 1: Διάγραμμα ροής PRISMA 2020 — Διαδικασία επιλογής μελετών. Από τα 1.540 αρχικά άρθρα, 105 μελέτες εντάχθηκαν στην τελική σύνθεση μετά από αφαίρεση διπλοτύπων, αξιολόγηση τίτλων/περιλήψεων και αξιολόγηση πλήρους κειμένου. Προσαρμογή από Page et al

2.4 Αξιολόγηση ποιότητας

Η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σε μια βιβλιογραφική ανασκόπηση προϋποθέτει την αυστηρή αξιολόγηση της ποιότητας (quality assessment) των εντασσόμενων μελετών. Η αξιολόγηση βασίστηκε στη μεθοδολογική αρτιότητα των ερευνών, στο μέγεθος του κλινικού

δείγματος (όπου εφαρμόζεται) και στην εγκυρότητα των μοριακών τεχνικών (π.χ. επιβεβαίωση αποτελεσμάτων RNA-seq μέσω qRT-PCR).

Για τη διασφάλιση της υψηλότερης δυνατής ακαδημαϊκής εγκυρότητας, δόθηκε προτεραιότητα σε άρθρα δημοσιευμένα σε περιοδικά υψηλού κύρους. Ενδεικτικά, η πλειονότητα των άρθρων που επελέγησαν προέρχεται από κορυφαία επιστημονικά περιοδικά στους τομείς της Αναπαραγωγικής Ιατρικής και της Μοριακής Βιολογίας, όπως το Human Reproduction, το Fertility and Sterility, το Reproductive Biology and Endocrinology, καθώς και το Journal of Ovarian Research, τα οποία κατατάσσονται στο πρώτο (Q1) ή δεύτερο (Q2) τεταρτημόριο της κατηγορίας τους. Η στρατηγική αυτή ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο ενσωμάτωσης δεδομένων χαμηλής αξιοπιστίας (bias reduction) και διασφαλίζει ότι τα συμπεράσματα της διπλωματικής εργασίας αντανακλούν την αιχμή της σύγχρονης ερευνητικής πραγματικότητας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΗ ΚΩΔΙΚΩΝ RNA

Σκοπός αυτού του κεφαλαίου είναι η δημιουργία του απαραίτητου θεωρητικού και μοριακού υποβάθρου γύρω από τα μη κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs). Αναλύεται η βιογένεση, οι δομικές ιδιαιτερότητες, η ταξινόμηση και οι μηχανισμοί δράσης τους, καθώς και ο τρόπος με τον οποίο αυτά τα μακρομόρια συγκροτούν το επονομαζόμενο «επιγονιδίωμα», ρυθμίζοντας χωροχρονικά την έκφραση των πρωτεϊνοκωδικοποιούντων γονιδίων.

3.1 Ταξινόμηση ncRNAs

Η σημαντική εξέλιξη των τεχνολογιών αλληλούχησης επόμενης γενιάς (RNA-seq) οδήγησε στην ανακάλυψη χιλιάδων νέων μεταγραφημάτων, καταδεικνύοντας ότι το RNA δεν αποτελεί απλώς τον ενδιάμεσο αγγελιαφόρο μεταξύ DNA και πρωτεϊνών. Τα μη κωδικοποιούντα RNA διακρίνονται γενικά σε δύο μεγάλες ομάδες βάσει του λειτουργικού τους ρόλου: τα δομικά/βασικά ncRNAs (housekeeping ncRNAs) και τα ρυθμιστικά ncRNAs (regulatory ncRNAs). Τα δομικά, όπως τα ριβοσωμικά RNA (rRNAs) και τα μεταφορικά RNA (tRNAs), εκφράζονται σταθερά και είναι απαραίτητα για την επιβίωση του κυττάρου και την πρωτεϊνοσύνθεση. Αντιθέτως, τα ρυθμιστικά ncRNAs παρουσιάζουν ισχυρή ιστική ειδικότητα και αποτελούν το

κύριο αντικείμενο της σύγχρονης μοριακής βιολογίας και αναπαραγωγικής ιατρικής (Chen & Kim, 2024).

Κατηγορίες βάσει μεγέθους και λειτουργίας

Για την ακριβέστερη μελέτη τους, τα ρυθμιστικά ncRNAs ταξινομούνται παραδοσιακά βάσει του μεγέθους (μήκους νουκλεοτιδίων) της ώριμης μορφής τους σε δύο ευρείες κατηγορίες:

- Μικρά μη κωδικοποιούντα RNA (sncRNAs - <200 νουκλεοτίδια): Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα microRNAs (miRNAs), τα RNA που αλληλεπιδρούν με την πρωτεΐνη PIWI (piRNAs) και τα μικρά πυρηνισκικά RNAs (snoRNAs). Τα μόρια αυτά δρουν κυρίως ως μετα-μεταγραφικοί καταστολείς ή οδηγοί (guides) για τη στόχευση συγκεκριμένων αλληλουχιών RNA (Chen & Kim, 2024).
- Μακρά μη κωδικοποιούντα RNA (lncRNAs - >200 νουκλεοτίδια): Αποτελούν μια ιδιαίτερα ετερογενή ομάδα. Συνήθως μεταγράφονται από την RNA Πολυμεράση II, φέρουν 5'- κάλυπτρα (cap) και πολυαδενυλιωμένη ουρά (poly-A), αλλά δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες (Chodurska & Kunaj, 2025). Λειτουργούν ως μοριακά ικρίωματα (scaffolds) για τη συγκρότηση συμπλόκων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης, καθώς και ως ανταγωνιστικά ενδογενή RNA (ceRNAs) ή “σπόγγι” (sponges) στο κυτταρόπλασμα. Τα κυκλικά RNA (circRNAs), τα οποία ποικίλλουν σε μέγεθος αλλά συχνά υπερβαίνουν τα 200 nt, εντάσσονται συνήθως σε αυτό το ρυθμιστικό δίκτυο, παρά τη μοναδική, ομοιοπολικά κλειστή δομή τους (Chen & Kim, 2024).

Ο παρακάτω πίνακας συνοψίζει τις κύριες κατηγορίες ρυθμιστικών ncRNAs που εμπλέκονται στη φυσιολογία των θηλαστικών:

Πίνακας 3.1: Κύριες κατηγορίες και χαρακτηριστικά των ρυθμιστικών ncRNAs.

Κατηγορία	Μέγεθος	Βιογένεση / Δομή	Κύρια Λειτουργία	Πηγή
miRNA	~22 nt	Παράγονται μέσω της οδού Drosha/Dicer.	Μετα-μεταγραφική σίγηση μέσω πρόσδεσης στο 3' UTR	(Shang et al., 2023)



		Γραμμικά και μονόκλωνα στην ώριμη μορφή τους.	των mRNA-στόχων εντός του συμπλόκου RISC.	
lncRNA	>200 nt	Μεταγράφονται συνήθως από την Pol II. Υφίστανται μάτισμα (splicing), φέρουν 5'-cap και poly-A.	Επιγενετική ρύθμιση, αρχιτεκτονική χρωματίνης (scaffolds), ρύθμιση μεταγραφής (cis/trans), δίκτυα ceRNA.	(Chodurska & Kunej, 2025)
circRNA	Ποικίλο (έως χιλιάδες nt)	Οπίσθιο μάτισμα (back-splicing). Ομοιοπολικά κλειστός κύκλος, χωρίς ελεύθερα 5' ή 3' άκρα.	Εξαιρετικά ανθεκτικοί “σπόγγοι” miRNAs (miRNA sponges), αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες (RBPs).	(Chen & Kim, 2024)
piRNA	24-32 nt	Ανεξάρτητη από Dicer βιογένεση από ειδικές γονιδιωματικές συστάδες.	Αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες PIWI. Προστασία του γονιδιώματος (καταστολή τρανσποζονίων) κυρίως στα γεννητικά κύτταρα.	(Wu et al., 2020)
snoRNA	60-300 nt	Εντοπίζονται στον πυρηνίσκο (nucleolus). Συχνά προέρχονται από ιντρόνια.	Καθοδήγηση χημικών τροποποιήσεων (π.χ. 2'-O-μεθυλίωση) σε rRNAs/snRNAs, ρύθμιση ματίσματος.	(Wang et al., 2025)

Εξελικτική Συντήρηση

Ιστορικά, τα ncRNAs θεωρούνταν μεταγραφικός “θόρυβος”, εν μέρει επειδή παρουσιάζουν χαμηλότερη συντήρηση της πρωτοταγούς αλληλουχίας τους μεταξύ διαφορετικών ειδών σε σχέση με τα πρωτεϊνοκωδικοποιούντα γονίδια. Ωστόσο, αυτή η αντίληψη έχει αναθεωρηθεί πλήρως:

- miRNAs: Εμφανίζουν υψηλή εξελικτική συντήρηση σε ολόκληρο το ζωικό βασίλειο. Το χαρακτηριστικότερο παράδειγμα αποτελεί το let-7, το οποίο, μετά την ανακάλυψή του

στο *C. elegans*, εντοπίστηκε σχεδόν σε όλα τα πολύπλοκα είδη (συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου), επιβεβαιώνοντας τη βασική σημασία της κατασταλτικής του δράσης στα δίκτυα ανάπτυξης (Shang et al., 2023).

- **circRNAs:** Εμφανίζουν εξίσου υψηλά επίπεδα συντήρησης, κυρίως στους ιστούς της αναπαραγωγής και τον εγκέφαλο, κάτι που οφείλεται στη διατήρηση των αλληλουχιών (όπως τα στοιχεία ALU) που οδηγούν τον μηχανισμό του οπίσθιου ματίσματος (Chen & Kim, 2024).
- **lncRNAs:** Παρότι η γραμμική τους αλληλουχία συχνά μεταβάλλεται ταχέως κατά την εξέλιξη, επιδεικνύουν ισχυρή συντήρηση της δευτεροταγούς και τριτοταγούς δομής τους, καθώς και της γονιδιωματικής τους θέσης (synteny). Αυτή η δομική συντήρηση είναι απαραίτητη για τη δέσμευση με σύμπλοκα χρωματίνης (Chodurska & Kunej, 2025).
- **piRNAs:** Αποτελούν ένα μοναδικό εξελικτικό παράδοξο. Ο βασικός μηχανισμός δράσης τους (το μονοπάτι PIWI-piRNA για την αδρανοποίηση των τρανσποζονίων) είναι ιδιαίτερα συντηρημένος στα ζώα. Αντίθετα, οι ίδιες οι αλληλουχίες των piRNAs παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία και σημαντική εξέλιξη, ως απάντηση στη συνεχή εξελικτική ανταγωνιστική δυναμική απέναντι στα συνεχώς μεταβαλλόμενα κινητά γενετικά στοιχεία (transposons) (Wu et al., 2020).

3.2 MicroRNAs (miRNAs)

Εισαγωγή στα miRNAs

Τα microRNAs (miRNAs) αποτελούν την πλέον μελετημένη και εκτενώς χαρακτηρισμένη κατηγορία των μικρών μη κωδικοποιούντων RNA (sncRNAs). Πρόκειται για ενδογενή, μονόκλιωνα μόρια RNA με μέσο μήκος 22 νουκλεοτίδια, τα οποία λειτουργούν ως σημαντικοί μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Έχοντας συντηρηθεί σε μεγάλο βαθμό κατά τη διάρκεια της εξέλιξης στα μετόζωα, τα miRNAs ρυθμίζουν βασικά κυτταρικά προγράμματα, όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, η απόπτωση και η διατήρηση της ομοιόστασης (Dexheimer & Cochella, 2020). Στον τομέα της ανθρώπινης αναπαραγωγής, τα μόρια αυτά εποπτεύουν

βασικές διαδικασίες όπως η γαμετογένεση, η ωρίμανση των ωοθυλακίων και η ανάπτυξη του εμβρύου (Hayder et al., 2018).

Βιογένεση: Από το pri-miRNA στο Ώριμο miRNA

Η παραγωγή των λειτουργικών miRNAs μέσω της «κανονικής» (canonical) οδού συνιστά μια αυστηρά ελεγχόμενη, πολυσταδιακή διαδικασία που ξεκινά στον πυρήνα του κυττάρου και ολοκληρώνεται στο κυτταρόπλασμα (O'Brien et al., 2018):

- **Μεταγραφή (Transcription):** Η διαδικασία εκκινείται όταν τα γονίδια των miRNAs (που βρίσκονται είτε σε ανεξάρτητες διαγονιδιακές περιοχές είτε εντός ιντρονίων) μεταγράφονται, κυρίως από την RNA πολυμεράση II (Pol II). Το πρωτοταγές μεταγράφημα που προκύπτει ονομάζεται pri-miRNA (primary miRNA). Είναι ένα μακρύ μόριο που φέρει 5'-κάλυπτρα (cap) και πολυαδενυλιωμένη ουρά (poly-A), το οποίο αναδιπλώνεται σχηματίζοντας χαρακτηριστικές δομές φουρκέτας (stem-loop).
- **Πυρηνική Επεξεργασία (Nuclear Cropping):** Εντός του πυρήνα, το pri-miRNA αναγνωρίζεται από το πρωτεϊνικό σύμπλοκο "Microprocessor". Ο καταλυτικός πυρήνας του συμπλόκου αποτελείται από το ένζυμο RNase III, την Drosha, και τη συνοδό πρωτεΐνη DGCR8. Η DGCR8 προσανατολίζει την Drosha, η οποία αποκόπτει τη βάση της φουρκέτας, παράγοντας ένα πρόδρομο μόριο μήκους περίπου 65-70 νουκλεοτιδίων, το pre-miRNA.
- **Πυρηνική Εξαγωγή (Nuclear Export):** Το pre-miRNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα μέσω της εξειδικευμένης πρωτεΐνης μεταφοράς Εξπορτίνης-5 (Exportin-5), σε μια ενεργειακά εξαρτώμενη διαδικασία που απαιτεί την υδρόλυση του RanGTP.
- **Κυτταροπλασματική Επεξεργασία (Cytoplasmic Dicing):** Μόλις βρεθεί στο κυτταρόπλασμα, το pre-miRNA δέχεται τη δράση ενός δεύτερου ενζύμου RNase III, του Dicer. Το Dicer αποκόπτει τον τερματικό βρόχο (terminal loop), δημιουργώντας ένα διπλόκλωνο μόριο RNA ~22 νουκλεοτιδίων (miRNA duplex).
- **Συγκρότηση του Συμπλόκου RISC:** Ο διπλός κλώνος ξετυλίγεται και συνήθως μόνο η μία αλυσίδα —η «οδηγός» (guide strand)— επιλέγεται βάσει θερμοδυναμικής σταθερότητας

για να ενσωματωθεί στο σύμπλοκο RISC (RNA-induced silencing complex). Ο καταλυτικός πυρήνας του RISC απαρτίζεται από τις πρωτεΐνες της οικογένειας Argonaute (π.χ. AGO2 στα θηλαστικά). Η άλλη αλυσίδα (passenger strand) κατά κανόνα αποδομείται.

Μηχανισμός Δράσης: Αποσιώπηση του mRNA Στόχου

Ο κύριος μηχανισμός μέσω του οποίου τα miRNAs ασκούν τη βιολογική τους δράση είναι η μετα-μεταγραφική αποσιώπηση (post-transcriptional gene silencing) των mRNA-στόχων. Το σύμπλοκο miRNA-RISC καθοδηγείται στο mRNA-στόχο μέσω συμπληρωματικότητας των βάσεων. Η κρισιμότερη περιοχή για αυτή την αναγνώριση είναι το “seed region” (περιοχή σποράς), μια αλληλουχία 6-8 νουκλεοτιδίων στο 5’ άκρο του miRNA, η οποία συνήθως προσδένεται στην 3’-αμετάφραστη περιοχή (3’ UTR) του mRNA (Bartel, 2018). Η αποσιώπηση πραγματοποιείται με δύο βασικούς τρόπους, ανάλογα με τον βαθμό συμπληρωματικότητας (Bartel, 2018):

- Αποδόμηση του mRNA (mRNA decay/degradation): Εάν υπάρχει πλήρης (ή σχεδόν τέλεια) συμπληρωματικότητα, η πρωτεΐνη AGO2 διασπά άμεσα το mRNA (slicer-dependent degradation). Στα θηλαστικά, όπου η απόλυτη συμπληρωματικότητα είναι σπάνια, το RISC συχνά στρατολογεί ένζυμα που προκαλούν την αποαδενυλίωση και την απομάκρυνση της 5’-κάλυπτρας (decapping), οδηγώντας το mRNA σε ταχεία αποδόμηση.
- Αναστολή της Μετάφρασης (Translational repression): Σε περιπτώσεις μερικής συμπληρωματικότητας, το σύμπλοκο RISC δεν καταστρέφει το mRNA, αλλά εμποδίζει φυσικά την πρόσδεση ή την προώθηση των ριβοσωμάτων, καταστέλλοντας έτσι την παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης.

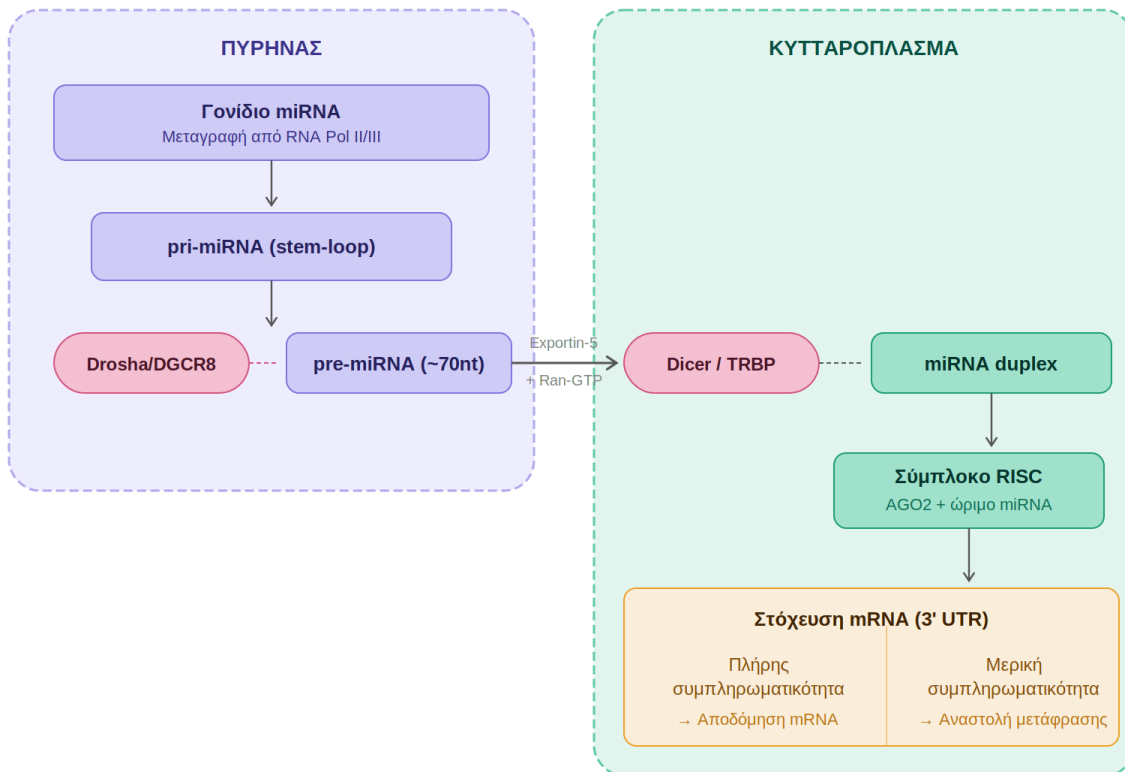
Ιδιότητες: Πλειοτροπική Δράση «Ένα προς Πολλά»

Μια βασική ιδιότητα των miRNAs είναι η πολυδύναμη φύση της στόχευσής τους. Επειδή απαιτούν μόνο μερική συμπληρωματικότητα στο “seed region”, ένα και μόνο μόριο miRNA έχει τη δυνατότητα να στοχεύσει, να δεσμεύσει και να αποσιωπήσει εκατοντάδες διαφορετικά μόρια mRNA. Αυτή η ιδιότητα τους επιτρέπει να λειτουργούν ως ρυθμιστικοί διακόπτες που ελέγχουν ολόκληρα δίκτυα σηματοδότησης (Bartel, 2018). Αντιστρόφως, η 3’ UTR ενός συγκεκριμένου

mRNA τυπικά περιέχει θέσεις πρόσδεσης για πολλαπλά, διαφορετικά miRNAs. Συνεπώς, διαφορετικά miRNAs μπορούν να δράσουν συνεργιστικά για την ακριβή και εξισορροπημένη καταστολή (fine-tuning) ενός γονιδίου.

Έκκριση σε Εξωσώματα και Κυκλοφορούντα (Circulating) miRNAs

Αν και τα miRNAs λειτουργούν κυρίως ενδοκυτταρικά, ένα σημαντικό ποσοστό τους εκκρίνεται ενεργά στον εξωκυττάριο χώρο, κυκλοφορώντας σταθερά σε βιολογικά υγρά, όπως το πλάσμα του αίματος, το σπερματικό υγρό και το ωοθυλακικό υγρό. Για να προστατευθούν από την αποδόμηση που προκαλούν οι ριβονουκλεάσες (RNases), τα εξωκυττάρια miRNAs συσκευάζονται κυρίως μέσα σε εξωσώματα (exosomes) και μικροκυτίδια, ή προσδένονται σε προστατευτικές πρωτεΐνες (π.χ. Argonaute, HDL) (O'Brien et al., 2018). Μέσω των εξωσωμάτων, τα miRNAs μπορούν να μεταφερθούν σε κύτταρα-αποδέκτες, δρώντας ως χημικοί αγγελιαφόροι για τη μεσοκυττάρια επικοινωνία (cell-cell communication). Στην αναπαραγωγή, η παρουσία των miRNAs στα εξωσώματα και η κυκλοφορία τους στο μητρικό αίμα παίζουν σημαντικό ρόλο στην πλακουντοποίηση και την ανάπτυξη του εμβρύου (Hayder et al., 2018). Η αυξημένη σταθερότητά τους έχει καταστήσει τα κυκλοφορούντα miRNAs ιδανικούς στόχους για την ανάπτυξη μη επεμβατικών βιοδεικτών, καθώς και τη μελέτη επιπλοκών της κύησης και γενικότερων αναπαραγωγικών διαταραχών (Hayder et al., 2018).



Εικόνα 2: Οδός βιογένεσης των microRNAs. Η μεταγραφή του γονιδίου miRNA από RNA Pol II/III παράγει το pri-miRNA, το οποίο επεξεργάζεται διαδοχικά από τα ένζυμα Drosha/DGCR8 (πυρήνας) και Dicer/TRBP (κυτταρόπλασμα). Το ώριμο miRNA ενσωματώνεται στο σύμπλοκο RISC-AGO2 και στοχεύει την 3' UTR του mRNA, οδηγώντας σε αποδόμηση ή αναστολή μετάφρασης.

3.3 Μακρά Μη Κωδικοποιούντα RNA (lncRNAs)

Τα μακρά μη κωδικοποιούντα RNA (long non-coding RNAs - lncRNAs) αντιπροσωπεύουν τη μεγαλύτερη, ταχύτερα αναπτυσσόμενη και ίσως την πλέον ετερογενή κατηγορία του μη κωδικοποιούντος μεταγραφώματος στους ανώτερους οργανισμούς (Mattick et al., 2023). Απαρτίζουν ένα εκτεταμένο ρυθμιστικό δίκτυο που καθοδηγεί την κυτταρική διαφοροποίηση, την οργάνωση της αρχιτεκτονικής του πυρήνα και τον επιγενετικό προγραμματισμό, στοιχεία που είναι απαραίτητα για την πολύπλοκη φυσιολογία της ανθρώπινης αναπαραγωγής και την ανάπτυξη των γαμετών (Statello et al., 2021).

Δομή και Γενωμική Οργάνωση

Ως lncRNAs ορίζονται αυστηρά τα μόρια RNA που υπερβαίνουν σε μήκος τα 200 νουκλεοτίδια και στερούνται κλασικής κωδικοποιητικής ικανότητας, δηλαδή δεν μεταφράζονται σε λειτουργικές, πλήρεις πρωτεΐνες. Ωστόσο, αναδυόμενα δεδομένα υποδεικνύουν ότι ορισμένα lncRNAs φέρουν μικρά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (sORFs) και δύνανται να μεταφραστούν σε βιολογικά ενεργά μικρο-πεπτίδια (Mattick et al., 2023). Δομικά, τα lncRNAs εμφανίζουν σημαντικές ομοιότητες με τα κλασικά αγγελιαφόρα RNA (mRNAs): η πλειονότητά τους μεταγράφεται από την RNA Πολυμεράση II (Pol II), υφίσταται διαδικασία ματίσματος (splicing) για την αφαίρεση ιντρονίων, και φέρει προστατευτική καλύπτρα στο 5' άκρο (5'-cap) καθώς και πολυαδενυλιωμένη ουρά στο 3' άκρο (poly-A tail) (Chodurska & Kunej, 2025).

Σε αντίθεση με τα εξαιρετικά συντηρημένα mRNAs και miRNAs, η πρωτοταγής αλληλουχία (primary sequence) των lncRNAs εξελίσσεται με ταχύτατους ρυθμούς. Εντούτοις, η βιολογική τους λειτουργία εξασφαλίζεται μέσω της ισχυρής εξελικτικής συντήρησης της δευτεροταγούς και τριτοταγούς τους δομής. Τα lncRNAs αναδιπλώνονται δημιουργώντας πολύπλοκα «δομικά στοιχεία» (structural modules) τα οποία τους επιτρέπουν να προσδένονται με απόλυτη εξειδίκευση σε πρωτεΐνες (σχηματίζοντας ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα - RNP), σε τμήματα του DNA, ή σε άλλα RNA μόρια (Mattick et al., 2023).

Βάσει της γενωμικής τους οργάνωσης και της θέσης μεταγραφής τους σε σχέση με τα γειτονικά πρωτεϊνοκωδικοποιούντα γονίδια, η Επιτροπή Ονοματολογίας Ανθρώπινων Γονιδίων (HGNC) ταξινομεί τα lncRNAs σε τέσσερις κύριες υποκατηγορίες (Chodurska & Kunej, 2025):

- Διαγονιδιακά (Intergenic lncRNAs / lincRNAs): Μεταγράφονται από περιοχές του γονιδιώματος που βρίσκονται ανάμεσα σε κωδικοποιούντα γονίδια, χωρίς να επικαλύπτουν καμία κωδικοποιούσα αλληλουχία.
- Ιντρονικά (Intronic): Προέρχονται εξ ολοκλήρου από τα ιντρόνια άλλων γονιδίων, ρυθμίζοντας συχνά την έκφραση του γονιδίου-ξενιστή.
- Αντιαγγελιακά (Antisense): Μεταγράφονται από τον συμπληρωματικό (αντίθετο) κλώνο ενός πρωτεϊνοκωδικοποιούντος γονιδίου, επικαλύπτοντας συχνά τα εξόνιά του, επιτρέποντας την άμεση αλληλεπίδραση RNA-RNA.

- Αμφίδρομα (Bidirectional / Divergent): Μοιράζονται τον ίδιο υποκινητή (promoter) με ένα κωδικοποιούν γονίδιο, αλλά μεταγράφονται προς την αντίθετη κατεύθυνση, ρυθμίζοντας συνήθως συν-μεταγραφικά την έκφραση του γειτονικού γονιδίου.

Μηχανισμοί Δράσης

Η πολυδιάστατη φύση των lncRNAs τους επιτρέπει να δρουν τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα, ρυθμίζοντας τη γονιδιακή έκφραση σε τρία διακριτά επίπεδα: επιγενετικό, μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό (Statello et al., 2021).

- Επιγενετική Ρύθμιση (Scaffolds και Σύμπλοκα PRC2): Στον πυρήνα, ο πλέον εδραιωμένος μηχανισμός δράσης των lncRNAs είναι η λειτουργία τους ως «μοριακά ικριώματα» (scaffolds) (Mattick et al., 2023). Τα μόρια αυτά προσδένονται σε ένζυμα τροποποίησης της χρωματίνης και τα καθοδηγούν σε συγκεκριμένους γενωμικούς τόπους (loci). Το κλασικότερο παράδειγμα είναι η αλληλεπίδρασή τους με το κατασταλτικό σύμπλοκο Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) (Cantile et al., 2021). Πολλά lncRNAs διαθέτουν εξειδικευμένες περιοχές πρόσδεσης για την πρωτεΐνη EZH2 (την καταλυτική υπομονάδα του PRC2). Μεταφέροντας το σύμπλοκο σε ειδικούς υποκινητές γονιδίων, προκαλούν τη μεθυλίωση του αμινοξέος λυσίνη 27 της ιστόνης H3 (H3K27me3), επιβάλλοντας ισχυρή και στοχευμένη μεταγραφική σίγηση (transcriptional silencing) (Cantile et al., 2021). Μέσω αυτού του επιγενετικού μηχανισμού, τα lncRNAs ελέγχουν την ανάπτυξη, την κυτταρική ταυτότητα και τη μείωση κατά τη γαμετογένεση.
- Ρύθμιση Μεταγραφής σε cis και trans: Ανάλογα με την εμβέλεια της δράσης τους, τα πυρηνικά lncRNAs διακρίνονται σε cis-δρώντα και trans-δρώντα (Ferrer & Dimitrova, 2024). Τα cis-acting lncRNAs δρουν τοπικά, ρυθμίζοντας την αρχιτεκτονική της χρωματίνης και την έκφραση γειτονικών γονιδίων στο ίδιο χρωμόσωμα. Παράδειγμα αποτελούν τα Enhancer RNAs (eRNAs), τα οποία διευκολύνουν τον σχηματισμό βρόχων χρωματίνης φέρνοντας σε επαφή τους ενισχυτές με τους υποκινητές γονιδίων (Ferrer & Dimitrova, 2024). Αντίθετα, τα trans-acting lncRNAs αποσπώνται από τη θέση μεταγραφής τους και διαχέονται στο νουκλεόπλασμα, αναγνωρίζοντας απομακρυσμένα

γονίδια σε διαφορετικά χρωμοσώματα και επηρεάζοντας εκτενώς την τοπολογία ολόκληρου του πυρήνα (Ferrer & Dimitrova, 2024).

- Δίκτυα ceRNA (miRNA Sponges) στο Κυτταρόπλασμα: Όταν τα lncRNAs εξάγονται στο κυτταρόπλασμα, αναλαμβάνουν έναν εντελώς διαφορετικό ρόλο, εντασσόμενα στο δίκτυο των «Ανταγωνιστικών Ενδογενών RNA» (ceRNAs - Competing Endogenous RNAs) (Statello et al., 2021). Η πρωτοταγής αλληλουχία τους φέρει πολλαπλές θέσεις δέσμευσης (miRNA Response Elements - MREs) που αναγνωρίζονται ειδικά από τα microRNAs. Λειτουργώντας ως “μοριακοί σπόγγοι” (molecular sponges), τα κυτταροπλασματικά lncRNAs δεσμεύουν και εγκλωβίζουν μεγάλες ποσότητες miRNAs, αποτρέποντας την προσκόλλησή τους στα mRNA-στόχους. Με αυτόν τον τρόπο, αναστέλλουν την αποσιώπηση του mRNA, αυξάνοντας εμμέσως την παραγωγή των αντίστοιχων πρωτεϊνών και ρυθμίζοντας μονοπάτια που ελέγχουν την παραγωγή στεροειδών ορμονών (Statello et al., 2021).

Σημαντικά Παραδείγματα lncRNAs στην Αναπαραγωγή και τις Ενδοκρινοπάθειες

Η απορρύθμιση συγκεκριμένων lncRNAs αποτελεί βασικό παθογενετικό μηχανισμό σε μια πλειάδα αναπαραγωγικών και ενδοκρινικών διαταραχών. Παρακάτω αναλύονται τέσσερα κομβικά μόρια που σχετίζονται άμεσα με τη γονιμότητα:

- H19: Το H19 αποτελεί ένα από τα πρώτα lncRNAs που ανακαλύφθηκαν και ανήκει στα γονίδια γονιδιωματικής αποτύπωσης (imprinted genes), εκφραζόμενο αποκλειστικά από το μητρικό αλληλόμορφο (Peng et al., 2023). Η έκφρασή του είναι καθοριστική για την εμβρυογένεση, τη λειτουργία του πλακούντα και τη στεροειδογένεση. Στην αναπαραγωγική παθολογία, το H19 εμπλέκεται άμεσα στο Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS). Στο PCOS, το H19 λειτουργεί ως ceRNA: «σπογγίζει» το miR-19b ρυθμίζοντας τον αυξητικό παράγοντα CTGF, προάγοντας έτσι τον ανώμαλο πολλαπλασιασμό των κοκκιωδών κυττάρων και τη διαταραγμένη παραγωγή ανδρογόνων (Peng et al., 2023). Επιπρόσθετα, η ανώμαλη μεθυλίωση του υποκινητή του H19 στους



όρχεις έχει συσχετιστεί με ελαττωματική σπερματογένεση και σοβαρές μορφές ανδρικής υπογονιμότητας (Peng et al., 2023).

- **HOTAIR (HOX transcript antisense RNA):** Το HOTAIR αποτελεί το αρχέτυπο ενός trans-δρώντος lncRNA, του οποίου η υπερέκφραση σχετίζεται με απορρύθμιση κυτταρικών λειτουργιών. Στρατολογεί φυσικά δύο διαφορετικά επιγενετικά σύμπλοκα: το PRC2 στο 5' άκρο του (για μεθυλίωση της H3K27) και το σύμπλοκο LSD1/CoREST στο 3' άκρο του (για απομεθυλίωση της H3K4) (Cantile et al., 2021). Αυτή η διπλή δράση συντονίζει την πλήρη σίγηση γονιδίων-στόχων. Στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, η υπερέκφρασή του HOTAIR συνδέεται με την εξέλιξη της ενδομητρίωσης, προωθώντας την εισβολή και μετανάστευση των ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων, λειτουργώντας εν μέρει μέσω του μονοπατιού miR-519b-3p/PRRG4 (Cantile et al., 2021).
- **NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1):** Το NEAT1 είναι ένα μοναδικό πυρηνικό lncRNA που λειτουργεί ως το βασικό αρχιτεκτονικό ικρίωμα για τη συγκρότηση των πυρηνικών παρασπικτίων (paraspeckles) (Nakagawa et al., 2014). Σε θεμελιώδεις in vivo μελέτες σε ζωικά μοντέλα, η παρουσία του NEAT1 αποδείχθηκε απαραίτητη για τον σχηματισμό του ωχρού σωματίου (corpus luteum). Η απουσία του οδηγεί σε μείωση της προγεστερόνης και αδυναμία εγκαθίδρυσης της εγκυμοσύνης παρά τη φυσιολογική ωοθυλακιορρηξία (Nakagawa et al., 2014). Σε ανθρώπινες κλινικές μελέτες, το NEAT1 παίζει κομβικό ρόλο στην Ελαττωμένη Ωοθηκική Εφεδρεία (Diminished Ovarian Reserve - DOR) (Dong et al., 2025). Στην παθολογία αυτή, το NEAT1 παρουσιάζει μειωμένη έκφραση, αδυνατώντας να δεσμεύσει ικανοποιητικά το miR-204-5p, γεγονός που καταστέλλει τον υποδοχέα οιστρογόνων 1 (ESR1), αυξάνοντας την απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων και μειώνοντας τη σύνθεση οιστραδιόλης (Dong et al., 2025).
- **MEG3 (Maternally Expressed Gene 3):** Το MEG3 είναι ένα ακόμη σημαντικό αποτυπωμένο lncRNA του τύπου DLK1-MEG3 (χρωμόσωμα 14q32), γνωστό κυρίως για την ισχυρή ογκοκατασταλτική του δράση. Η λειτουργία του, ωστόσο, είναι σημαντική για τη φυσιολογία της κύησης, τον έλεγχο της απόπτωσης και την εμφύτευση (Liu et al., 2021). Στις περιπτώσεις προεκλαμψίας, το MEG3 βρέθηκε να υποεκφράζεται στους

τροφοβλάστες του πλακούντα. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το MEG3 ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη και τη διεισδυτικότητα των τροφοβλαστών λειτουργώντας ως κυτταροπλασματικός σπόγγος (ceRNA) για το miR-21, διασώζοντας έτσι την έκφραση του υποδοχέα BMPR2 (Bone Morphogenetic Protein Receptor Type 2). Η διακοπή αυτού του άξονα MEG3/miR-21/BMPR2 οδηγεί σε δυσλειτουργία της πλακουντοποίησης και συμβάλλει στην εκδήλωση της προεκλαμψίας (Liu et al., 2021).

3.4 Κυκλικά RNA (circRNAs)

Τα κυκλικά RNA (circular RNAs – circRNAs) αποτελούν μια ιδιαίτερη κατηγορία μη κωδικοποιούντων RNA που χαρακτηρίζεται από τη συνεχή, κλειστή κυκλική δομή τους: τα 3' και 5' άκρα τους ενώνονται ομοιοπολικά, σχηματίζοντας ένα μόριο χωρίς ελεύθερα άκρα (Kristensen et al., 2019). Αν και τα πρώτα circRNAs περιγράφηκαν ήδη τη δεκαετία του 1990 και αρχικά θεωρήθηκαν παραπροϊόντα ατελούς ματίσματος (splicing), η ανάπτυξη της αλληλούχησης επόμενης γενιάς (NGS) και ειδικών αλγορίθμων βιοπληροφορικής έδειξε ότι πρόκειται για μια ευρέως εκφραζόμενη κατηγορία μεταγραφημάτων με ιστοειδική και αναπτυξιακά ρυθμιζόμενη έκφραση (Memczak et al., 2013; Jeck & Sharpless, 2014).

Βιογένεση μέσω back-splicing

Σε αντίθεση με τα γραμμικά μετάγραφα, τα circRNAs παράγονται μέσω μιας μη κανονικής αντίδρασης ματίσματος γνωστής ως back-splicing, κατά την οποία ένας δότης θέσης ματίσματος στο 3' άκρο ενός εξονίου συνδέεται ομοιοπολικά με έναν δέκτη θέσης ματίσματος στο 5' άκρο ενός ανοδικού εξονίου, δημιουργώντας τη χαρακτηριστική κυκλική δομή (Jeck & Sharpless, 2014). Η αντίδραση αυτή ευνοείται από αντίστροφες συμπληρωματικές αλληλουχίες Alu στα πλευρικά ιντρόνια, οι οποίες φέρνουν σε εγγύτητα τα απομακρυσμένα εξόνια (Zhang et al., 2014). Η κυκλοποίηση μπορεί επίσης να επιτευχθεί μέσω πρωτεϊνών όπως η QKI (Quaking), η οποία διμερίζεται και γεφυρώνει τα πλευρικά ιντρόνια (Conn et al., 2015).

Βάσει της αλληλουχιακής τους σύστασης, τα circRNAs κατηγοριοποιούνται σε τρεις κύριους τύπους: (α) εξονικά circRNAs (ecircRNAs), που αποτελούν τη συντριπτική πλειονότητα (~85%), (β) ιντρονικά κυκλικά RNA (ciRNAs), και (γ) εξονικά-ιντρονικά circRNAs (EciRNAs) (Li et al., 2018).

Ο τύπος καθορίζει εν μέρει τον υποκυτταρικό εντοπισμό: τα *ecircRNAs* εντοπίζονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, ενώ τα *ciRNAs* και *ElciRNAs* παραμένουν στον πυρήνα (Zhang et al., 2013).

Δομικές ιδιότητες και σταθερότητα

Η κυκλική δομή προσδίδει στα *circRNAs* ανθεκτικότητα στην αποδόμηση από εξωνουκλεάσες (συμπεριλαμβανομένης της RNase R), με χρόνους ημιζωής σημαντικά μεγαλύτερους από αυτούς των αντίστοιχων γραμμικών mRNAs — σε ορισμένες περιπτώσεις η ημιζωή υπερβαίνει τις 48 ώρες (Jeck et al., 2013). Η σταθερότητα αυτή, σε συνδυασμό με τον εντοπισμό τους σε βιολογικά υγρά (αίμα, σάλιο, ωοθυλακικό υγρό, σπερματικό πλάσμα) εντός εξωσωμάτων ή ελεύθερα κυκλοφορούντα, τα καθιστά ελκυστικούς υποψήφιους βιοδείκτες (Kristensen et al., 2019).

Μηχανισμοί δράσης

Ο πλέον μελετημένος μηχανισμός δράσης αφορά τη λειτουργία ως ανταγωνιστικά ενδογενή RNA (*ceRNA*): τα *circRNAs* δεσμεύουν miRNAs μέσω πολλαπλών θέσεων πρόσδεσης, λειτουργώντας ως «σπόγγιο» και αποτρέποντας τη δράση τους στα φυσικά mRNA-στόχους. Το CDR1as (*ciRS-7*) διαθέτει περισσότερες από 70 θέσεις πρόσδεσης για το miR-7 (Hansen et al., 2013). Ωστόσο, η πλειονότητα των *circRNAs* δεν εμφανίζει τόσο εκτεταμένη σπογγιστική ικανότητα και ο μηχανισμός *ceRNA* δεν αποτελεί τη μοναδική λειτουργία τους (Kristensen et al., 2019). Ορισμένα *circRNAs* δρουν ως ικριώματα (*scaffolds*) για πρωτεϊνικά σύμπλοκα (Du et al., 2016), ενώ τα πυρηνικά *ciRNAs* και *ElciRNAs* ρυθμίζουν τη μεταγραφή *in cis* μέσω αλληλεπίδρασης με τη RNA πολυμεράση II (Li et al., 2015). Τέλος, ορισμένα *ecircRNAs* που περιέχουν εσωτερικές θέσεις εισόδου ριβοσώματος (IRES) μπορούν να μεταφραστούν σε μικροπεπτίδια (Pamudurti et al., 2017).

***circRNAs* στην ανθρώπινη αναπαραγωγή**

Στο αναπαραγωγικό σύστημα, τα *circRNAs* παρουσιάζουν ιστοειδικά πρότυπα έκφρασης στις ωοθήκες, τον ενδομήτριο, τον πλακούντα και τους όρχεις, ρυθμίζοντας διαδικασίες όπως η ωοθυλακιογένεση, η στεροειδογένεση, η δεκτικότητα του ενδομητρίου και η σπερματογένεση. Η συμμετοχή τους στην παθοφυσιολογία αναπαραγωγικών διαταραχών, ιδιαίτερα στο PCOS, την

ενδομητρίωση και την υποτροπιάζουσα αποβολή, αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας και αναλύεται στα Κεφάλαια 5 και 6. Ο Πίνακας 3.1 συνοψίζει τα βασικά χαρακτηριστικά των circRNAs σε σύγκριση με τις υπόλοιπες κατηγορίες ncRNAs.

3.5 piRNAs και snoRNAs στην Αναπαραγωγή

Εκτός από τα miRNAs, τα lncRNAs και τα circRNAs, το ρυθμιστικό τοπίο των γαμετών και της γονιμότητας εξαρτάται απόλυτα από δύο επιπλέον κατηγορίες μικρών μη κωδικοποιούντων RNA: τα piRNAs, που αποτελούν τους “φύλακες” του γονιδιώματος, και τα snoRNAs, τα οποία πλέον αναγνωρίζονται για τους πολυδιάστατους ρυθμιστικούς τους ρόλους.

piRNAs (PIWI-Interacting RNAs):

Προστασία του Γονιδιώματος και Γαμετογένεση Τα piRNAs αποτελούν μια εξειδικευμένη και πολυπληθή κατηγορία μικρών ncRNAs (μήκους 24-32 νουκλεοτιδίων) που εκφράζονται κατεχοχίν στα γεννητικά κύτταρα. Σε αντίθεση με τα miRNAs, η βιογένεσή τους είναι ανεξάρτητη από το ένζυμο Dicer. Παράγονται από μακρά μονόκλωνα μεταγραφήματα (piRNA clusters) και η ωρίμανσή τους βασίζεται σε δύο κύρια μονοπάτια: την πρωτοταγή επεξεργασία (primary processing pathway) από ενδονουκλεάσες (όπως η Zucchini/PLD6) και τον δευτεροταγή κύκλο ενίσχυσης “ping-pong” (ping-pong amplification cycle) (Li et al., 2024).

Λειτουργικά, τα piRNAs συνδέονται αποκλειστικά με τις πρωτεΐνες της οικογένειας PIWI (στους ανθρώπους περιλαμβάνουν τις PIWIL1, PIWIL2, PIWIL3 και PIWIL4). Ο πρωταρχικός και πιο συντηρημένος εξελικτικά ρόλος του συμπλόκου PIWI-piRNA είναι η καταστολή (silencing) των κινητών γενετικών στοιχείων (τρανσποζόνια και ρετροτρανσποζόνια, όπως τα LINE-1). Η καταστολή επιτυγχάνεται τόσο μέσω άμεσης αποδόμησης των RNA μεταγραφημάτων των τρανσποζονίων στο κυτταρόπλασμα, όσο και μέσω επιγενετικής σίγησης (επαγωγή μεθυλίωσης του DNA) στον πυρήνα, προστατεύοντας έτσι τη γονιδιωματική ακεραιότητα των γαμετών από μεταλλάξεις (Li et al., 2024).

Στη σπερματογένεση των θηλαστικών, τα piRNAs διακρίνονται αυστηρά σε δύο κύματα έκφρασης (Li et al., 2024):

- Τα προ-παχυτενικά (pre-pachytene) piRNAs, τα οποία εκφράζονται πρώιμα (από τα εμβρυϊκά στάδια έως τα σπερματογόνια) και στοχεύουν σχεδόν αποκλειστικά στην καταστολή των τρανσποζονίων.
- Τα παχυτενικά (pachytene) piRNAs, τα οποία εμφανίζονται κατά τη μείωση (στους παχυτενικούς σπερματοκυττάρους) και δεν στοχεύουν τρανσποζόνια. Αντιθέτως, λειτουργούν με τρόπο παρόμοιο των miRNAs, προκαλώντας τη μαζική αποδόμηση χιλιάδων mRNA (massive mRNA elimination) που είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση της σπερμιόγερσης και τον σχηματισμό ώριμων σπερματοζωαρίων.

Η κλινική σημασία του μονοπατιού αυτού είναι ιδιαίτερη. Σύγχρονες μελέτες έχουν εντοπίσει γενετικές μεταλλάξεις σε γονίδια του μονοπατιού των piRNAs (όπως στα PIWIL1, PIWIL4, PNLDC1 και TEX15) οι οποίες συνδέονται άμεσα με σοβαρές μορφές ανδρικής υπογονιμότητας στον άνθρωπο, οδηγώντας κυρίως σε μειωτική αναστολή (meiotic arrest), βαριά ολιγοζωοσπερμία ή μη αποφρακτική αζωοσπερμία (NOA) (Hong et al., 2025).

Στην ωογένεση, το δίκτυο των piRNAs είναι εξίσου σημαντικό. Πρόσφατες αναλύσεις μονοκυτταρικής αλληλούχησης (single-oocyte sequencing) σε ανθρώπινα ωάρια έδειξαν ότι τα piRNAs —και ιδιαίτερα αυτά που συσχετίζονται με την πρωτεΐνη PIWIL3 (η οποία απουσιάζει από τα ποντίκια αλλά υπάρχει στον άνθρωπο)— αποτελούν τα κυρίαρχα μικρά ncRNAs. Αναστέλλουν στοχευμένα βασικά ρετροτρανσποζόνια, εξασφαλίζοντας τη γενετική σταθερότητα και την αναπτυξιακή ικανότητα του ωαρίου στα πρώτα στάδια της εμβρυογένεσης (Zhang et al., 2025).

snoRNAs (Small Nucleolar RNAs):

Από την Ωρίμανση των Ριβοσωμάτων στην Αναπαραγωγή Τα μικρά πυρηνισκικά RNA (snoRNAs) είναι μια συντηρημένη κλάση μορίων, μήκους 60-300 νουκλεοτιδίων, που εντοπίζονται στον πυρηνίσκο του κυττάρου. Παραδοσιακά, ταξινομούνται βάσει δομής σε δύο ομάδες: τα C/D box snoRNAs, που καθοδηγούν την 2'-Ο-μεθυλίωση, και τα H/ACA box snoRNAs, που καθοδηγούν την ψευδουριδυλίωση (pseudouridylation) των ριβοσωμικών RNA (rRNAs), διασφαλίζοντας τη σωστή βιογένεση των ριβοσωμάτων (Wang et al., 2025).

Ωστόσο, το σύγχρονο ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στις “μη-κανονικές” (non-canonical) λειτουργίες τους. Τα snoRNAs έχουν βρεθεί να ρυθμίζουν το εναλλακτικό μάτισμα (alternative splicing) πρόδρομων mRNAs, να αλληλεπιδρούν άμεσα με lncRNAs, και υπό συνθήκες στρες, να διασπώνται σε μικρότερα ρυθμιστικά θραύσματα (sdRNAs) που λειτουργούν στο κυτταρόπλασμα παρόμοια με τα miRNAs (Wang et al., 2025).

Στον τομέα της αναπαραγωγής, πρόσφατες ανακαλύψεις υποδεικνύουν ότι ορισμένα snoRNAs επιδεικνύουν ισχυρή ιστική ειδικότητα και ρυθμίζουν την κυτταρική μοίρα των γαμετών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο λειτουργικός διχασμός (bifunctionality) μορίων όπως το snoRNA SNORA73B. Εκτός από την κλασική του λειτουργία στη μεθυλίωση του rRNA, λειτουργεί και ως μοριακό ικρίωμα (scaffold), οργανώνοντας πρωτεϊνικά σύμπλοκα-τελεστές (effectors) που είναι αναγκαία κατά τη γαμετογένεση και τον κυτταρικό μεταβολισμό (Leroy et al., 2025). Η απορρύθμιση της έκφρασης συγκεκριμένων snoRNAs σε γοναδικούς ιστούς συνδέεται πλέον με μειωμένη διαφοροποίηση των γεννητικών κυττάρων και αποτελεί ένα νέο πεδίο αναζήτησης αιτιών ιδιοπαθούς υπογονιμότητας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ncRNAs ΣΤΗ ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ

Βασικός σκοπός του παρόντος κεφαλαίου είναι η ανάλυση του ρυθμιστικού ρόλου των μη κωδικοποιούντων RNA (ncRNAs) στην παραγωγή και ωρίμανση των γαμετών. Η γαμετογένεση (ωογένεση στο θήλυ και σπερματογένεση στο άρρεν) αποτελεί μια αυστηρά συντονισμένη διαδικασία κυτταρικής διαφοροποίησης, πολλαπλασιασμού και μείωσης. Τα ncRNAs λειτουργούν ως σημαντικοί επιγενετικοί και μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές, ελέγχοντας την επιβίωση των κυττάρων, την προστασία του γονιδιώματος και την επικοινωνία μεταξύ των γαμετών και των υποστηρικτικών σωματικών κυττάρων.

4.1 Ωογένεση

Η ωογένεση και η ανάπτυξη των ωοθυλακίων εξαρτώνται απόλυτα από την αμφίδρομη παρακρινική επικοινωνία μεταξύ του ωοκυττάρου και των περιβαλλόντων σωματικών κυττάρων,

δηλαδή των κοκκιωδών κυττάρων (granulosa cells) και των κυττάρων του ωοφόρου δίσκου (cumulus cells). Τα ncRNAs που εντοπίζονται σε αυτά τα κύτταρα, καθώς και εκείνα που εκκρίνονται στο ωοθυλακικό υγρό, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο.

4.1.1 ncRNAs στη δημιουργία και συντήρηση ωοθυλακίου

Η ομαλή ωοθυλακιογένεση απαιτεί μια αυστηρή ισορροπία μεταξύ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης. Η διαταραχή αυτής της ισορροπίας οδηγεί σε ωοθυλακική ατρησία ή σε κλινικές διαταραχές της ωρίμανσης.

miR-21 και miR-23a: Ρυθμιστές της επιβίωσης και απόπτωσης των κοκκιωδών κυττάρων

Το microRNA-21 (miR-21) αποτελεί ένα από τα πλέον άφθονα και κρίσιμα miRNAs στο ωοθυλακικό μικροπεριβάλλον των θηλαστικών. Η έκφρασή του επάγεται ισχυρά από την ωχρινότροπο ορμόνη (LH) λίγο πριν την ωοθυλακιορρηξία (Carletti et al., 2010). Λειτουργεί ως ισχυρός αντιαποπτωτικός παράγοντας, προάγοντας την επιβίωση των κοκκιωδών κυττάρων. Μάλιστα, *in vivo* πειραματική αναστολή του miR-21 έχει δείχθει ότι οδηγεί σε αύξηση της ενεργής κασπάσης-3 (βασικού εκτελεστή της απόπτωσης) και σε σημαντική μείωση των ποσοστών ωοθυλακιορρηξίας (Carletti et al., 2010). Ο βασικός μηχανισμός δράσης του έγκειται στη μετα-μεταγραφική στόχευση και καταστολή του προ-αποπτωτικού γονιδίου PDCD4 (Programmed Cell Death 4). Σύγχρονη πειραματική επιβεβαίωση σε *in vivo* μοντέλο αρουραίου (DHEA-PCOS rat model), αξιοποιώντας τεχνικές όπως RIP και AlphaFold3, έδειξε ότι η καταστολή του miR-21-5p μεταβάλλει άμεσα τα επίπεδα του PDCD4 και της κασπάσης-3, προστατεύοντας τα κύτταρα από την απόπτωση (He et al., 2026).

Στον αντίποδα του miR-21, το miR-23a λειτουργεί ως προ-αποπτωτικός παράγοντας, προωθώντας τη διαδικασία της ωοθυλακικής ατρησίας. Μελέτες σε ανθρώπινα κοκκιώδη κύτταρα κατέδειξαν ότι το miR-23a, συχνά σε λειτουργική συνεργασία με το miR-27a, στοχεύει άμεσα το γονίδιο SMAD5, έναν βασικό ενδοκυτταρικό μεταβιβαστή σημάτων της υπερκοινογένειας του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β (TGF-β) (Nie et al., 2015). Η καταστολή του SMAD5 από το miR-23a οδηγεί στην ενεργοποίηση του αποπτωτικού μονοπατιού

FasL-Fas, αυξάνοντας τα επίπεδα των ενεργών μορφών της κασπάσης-8 και της κασπάσης-3, επισφραγίζοντας έτσι τον θάνατο των κοκκιωδών κυττάρων (Nie et al., 2015).

lncRNA NEAT1: Ο ρόλος του στην ωρίμανση του ωοκυττάρου

Στην κατηγορία των μακρών μη κωδικοποιούντων RNA, το NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη σωματική όσο και στη γαμετική στοιβάδα του ωοθυλακίου. Πρόκειται για ένα πυρηνικό lncRNA, το οποίο σε *in vivo* μοντέλα έχει αποδειχθεί αναγκαίο για τον σχηματισμό του ωχρού σωματίου και την εγκαθίδρυση της κύησης.

Όσον αφορά την ωρίμανση του ανθρώπινου ωοκυττάρου, η παθολογική υποέκφραση του NEAT1 έχει συσχετιστεί άμεσα με το σύνδρομο της Επαναλαμβανόμενης Αναστολής της Ωρίμανσης των Ωοκυττάρων (Recurrent Oocyte Maturation Arrest - ROMA) (Wei et al., 2022). Ο μηχανισμός περιλαμβάνει την απορρύθμιση γονιδίων-κλειδιών του μονοπατιού PI3K-AKT, όπως τα PRKCA και JAK3, οδηγώντας σε διαταραχή της ακεραιότητας του γονιδιώματος του ωαρίου (Wei et al., 2022).

Επιπρόσθετα, εντός των κοκκιωδών κυττάρων, το NEAT1 λειτουργεί ως κυτταροπλασματικός «σπόγγος» (ceRNA) για το miR-204-5p. Μέσω αυτής της ανταγωνιστικής δέσμευσης, αποτρέπει την καταστολή του Υποδοχέα Οιστρογόνων 1 (ESR1), προάγοντας την επιβίωση των κυττάρων και τη βιοσύνθεση της 17β-οιστραδιόλης (Dong et al., 2025). Η σημαντική μείωση της έκφρασης του NEAT1 συμβάλλει στην αυξημένη απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων και εντοπίζεται χαρακτηριστικά στο ωοθυλακικό περιβάλλον ασθενών με Ελαττωμένη Ωοθηκική Εφεδρεία (Diminished Ovarian Reserve - DOR) (Dong et al., 2025).

4.1.2 ncRNAs στη ρύθμιση ωοθυλακικής ατρησίας

Απόπτωση vs. Επιβίωση: Η ισορροπία των miRNAs Στα θηλαστικά, πάνω από το 99% των ωοθυλακίων που δημιουργούνται δεν φτάνουν ποτέ στο στάδιο της ωοθυλακιόρρηξης, αλλά εκφυλίζονται μέσω μιας φυσιολογικής, αυστηρά ρυθμιζόμενης διαδικασίας που ονομάζεται ωοθυλακική ατρησία. Η ατρησία πυροδοτείται πρωτίστως από τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) των κοκκιωδών κυττάρων. Η τελική μοίρα του ωοθυλακίου –η

επιβίωση και ωρίμανση ή ο θάνατος– καθορίζεται από μια λεπτή ισορροπία μεταξύ προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών παραγόντων.

Στο επίκεντρο αυτού του ρυθμιστικού δικτύου βρίσκονται τα miRNAs, τα οποία δρουν ως «μοριακοί διακόπτες». Ανάλογα με το ποιους υποδοχείς ή μεταγραφικούς παράγοντες στοχεύουν, μπορούν να γείρουν τη ζυγαριά είτε προς την κυτταρική επιβίωση είτε προς τον θάνατο. Η απορρύθμιση αυτής της ισορροπίας οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις: η υπερβολική έκφραση προ-αποπτωτικών miRNAs επιταχύνει την εξάντληση των ωοθυλακίων (οδηγώντας σε Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια - POI), ενώ η παθολογική αναστολή της ατρησίας επιτρέπει τη συσσώρευση ανώριμων κυστικών ωοθυλακίων, χαρακτηριστικό του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS).

Ο ρόλος των miR-27a, miR-181a και miR-214

Η σύγχρονη έρευνα έχει αναδείξει συγκεκριμένα miRNAs ως κύριους ρυθμιστές αυτής της διαδικασίας, αποκαλύπτοντας τα ακριβή ενδοκυτταρικά μονοπάτια που ελέγχουν:

- miR-27a: Όπως και το συνεργατικό του μόριο miR-23a, το miR-27a αποτελεί έναν ισχυρό προ-αποπτωτικό παράγοντα για τα κοκκιώδη κύτταρα. Η έκφρασή του αυξάνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια της ατρησίας, όπου στοχεύει και καταστέλλει άμεσα τον ενδοκυτταρικό μεταβιβαστή SMAD5 (Nie et al., 2015). Αυτή η αναστολή στερεί από το κύτταρο τα σήματα επιβίωσης της οικογένειας TGF- β και ενεργοποιεί το μονοπάτι του υποδοχέα θανάτου FasL-Fas, οδηγώντας σε συσσώρευση ενεργής κασπάσης-8 και κασπάσης-3, προκαλώντας έτσι την καταστροφή των κοκκιωδών κυττάρων (Nie et al., 2015).
- miR-181a: Ένα επιπλέον σημαντικό μόριο που προάγει την ατρησία είναι το miR-181a. Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, το miR-181a υπερεκφράζεται και στοχεύει ειδικά τη δεακετυλάση SIRT1 (Sirtuin 1) (Zhang et al., 2017). Η μείωση των επιπέδων της SIRT1 εμποδίζει τη φυσιολογική δεακετυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα FoxO1, με αποτέλεσμα την παθολογική ακετυλίωση και συσσώρευσή του στον πυρήνα. Η ενεργοποίηση του FoxO1 πυροδοτεί με τη σειρά της μια αλυσίδα έκφρασης

αποπτωτικών γονιδίων στα κοκκιώδη κύτταρα, δείχνοντας τη στενή σύνδεση μεταξύ οξειδωτικού στρες, miRNAs και ωοθυλακικής ατρησίας (Zhang et al., 2017).

- miR-214: Το miR-214 (και συγκεκριμένα η ώριμη μορφή του miR-214-3p) εμπλέκεται στη ρύθμιση της μιτοχονδριακής δυναμικής και της στεροειδογένεσης, διαδικασίες άρρηκτα συνδεδεμένες με την κυτταρική λειτουργία. Σε in vitro μοντέλα θηλαστικών (π.χ. χοίρειο μοντέλο), αποδείχθηκε ότι το miR-214-3p στοχεύει άμεσα τη μιτοφουσίνη 2 (Mfn2), μια πρωτεΐνη καίριας σημασίας για τη μιτοχονδριακή ακεραιότητα (Shi et al., 2020). Παράλληλα, ρυθμίζει αρνητικά ένζυμα παραγωγής οιστρογόνων (όπως τον παράγοντα NR5A1), καταστέλλοντας τη σύνθεση οιστραδιόλης (Shi et al., 2020). Οι δράσεις του miR-214-3p αποδεικνύουν περίτρανα πώς τα ncRNAs λειτουργούν ως ρυθμιστικοί κόμβοι μεταξύ του κυτταρικού μεταβολισμού και της ορμονικής παραγωγής στα κοκκιώδη κύτταρα.

4.1.3 Ρόλος των piRNAs στη γεννητική γραμμή

Η τελική ωρίμανση του ωοκυττάρου και η μετέπειτα μετάβαση από το μητρικό στο ζυγωτικό γονιδίωμα αποτελούν εξαιρετικά ευαίσθητα στάδια, στα οποία τα piRNAs (PIWI-Interacting RNAs) αναλαμβάνουν τον ρόλο του απόλυτου “φύλακα” της γεννητικής γραμμής.

Έκφραση στα ωκύτταρα και πρωτεΐνες PIWI Ιστορικά, η σημασία των piRNAs στη θηλυκή αναπαραγωγή υποτιμάτο, καθώς τα περισσότερα ερευνητικά δεδομένα προέρχονταν από ποντίκια, στα οποία το συγκεκριμένο μονοπάτι θεωρείτο μη ουσιώδες για τις ωοθήκες. Ωστόσο, η σύγχρονη έρευνα απέδειξε ότι αυτό δεν ισχύει στα ανώτερα θηλαστικά. Η σημαντική μελέτη των Williams et al. (2015) αποκάλυψε την παρουσία μεγάλων ποσοτήτων piRNAs στην ανθρώπινη εμβρυϊκή ωοθήκη, δείχνοντας τη βασική σημασία τους στη γυναικεία γονιμότητα. Σε αντίθεση με το ποντίκι, ο άνθρωπος και άλλα ανώτερα θηλαστικά (όπως τα βοοειδή και το golden hamster) εκφράζουν στα ωάρια τους εξειδικευμένες πρωτεΐνες της οικογένειας PIWI, όπως η PIWIL3 (η οποία απουσιάζει από το ποντίκι) και η PIWIL1 (Roovers et al., 2015).

Προστασία Γενώματος Οοκυττάρου από Τρανσποζόνια

Κατά την ωογένεση, τα γεννητικά κύτταρα πρέπει να διαφυλάξουν απόλυτα ακέραιο το γονιδίωμά τους προκειμένου να το μεταβιβάσουν με ασφάλεια στην επόμενη γενιά. Σε αυτή τη φάση αναδιαμόρφωσης, τα κινητά γενετικά στοιχεία, όπως τα τρανσποζόνια και τα ρετροτρανσποζόνια, αποτελούν μείζονα απειλή, καθώς η ανεξέλεγκτη μετακίνησή τους μπορεί να προκαλέσει καταστροφικές γενετικές μεταλλάξεις. Το σύμπλοκο PIWI-piRNA προστατεύει το γονιδίωμα του ωοκυττάρου, λειτουργώντας ως ένας ενδοκυτταρικός αμυντικός μηχανισμός που αναγνωρίζει και καταστέλλει αυστηρά την έκφραση αυτών των τρανσποζονίων, εξασφαλίζοντας τη γενετική σταθερότητα των γαμετών (Williams et al., 2015).

Κρίσιμος ρόλος στην Εμβρυογένεση (Maternal mRNA Decay)

Ο ρόλος των piRNAs εκτείνεται και στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης μετά τη γονιμοποίηση. Σε *in vivo* πειραματικά μοντέλα (golden hamster), αποδείχθηκε ότι το μονοπάτι των piRNAs είναι απαραίτητο για τη θηλυκή γονιμότητα (Hasuwa et al., 2021; Loubalova et al., 2021). Η απουσία των γονιδίων PIWI ή των ενζύμων βιογένεσης των piRNAs δεν εμποδίζει τη δημιουργία των ωαρίων, αλλά προκαλεί θηλυκή στειρότητα επειδή το σύμπλοκο PIWI-piRNA είναι άμεσα υπεύθυνο για την καθοδήγηση της μαζικής αποδόμησης των μητρικών mRNAs (maternal mRNA decay) (Hasuwa et al., 2021). Χωρίς τον έγκαιρο “καθαρισμό” αυτών των μητρικών μεταγραφημάτων, η εγκαθίδρυση του ζυγωτικού γονιδιώματος αποτυγχάνει και τα έμβρυα υφίστανται αναπτυξιακή αναστολή στα πρώιμα στάδια της διαίρεσής τους, π.χ. στο στάδιο των 2 κυττάρων (Hasuwa et al., 2021; Loubalova et al., 2021).

4.2 Σπερματογένεση

Η σπερματογένεση στα θηλαστικά είναι μια συνεχής, συνεχής και παραγωγική διαδικασία που λαμβάνει χώρα στα σπερματικά σωληνάρια των όρχεων. Διαιρείται σε τρεις διακριτές φάσεις: τον πολλαπλασιασμό των σπερματογονίων (μιτωτική φάση), τη μείωση των σπερματοκυττάρων (μειωτική φάση) και τη σπερμιογένεση, κατά την οποία οι στρογγυλές σπερματίδες μεταμορφώνονται σε ώριμα, κινητικά σπερματοζωάρια.

4.2.1 ncRNAs στη σπερματογονική στελεχιαία κυτταρική νίσχη

Η θεμελιώδης πηγή της συνεχούς παραγωγής σπέρματος είναι τα σπερματογονικά βλαστοκύτταρα (Spermatogonial Stem Cells - SSCs). Στη νίσχη τους (microenvironment/niche), τα SSCs πρέπει να διατηρούν μια τέλεια ισορροπία μεταξύ της αυτοανανέωσης (self-renewal) και της διαφοροποίησης (differentiation). Οποιαδήποτε ανισορροπία οδηγεί είτε σε εξάντληση της δεξαμενής των βλαστοκυττάρων (και συνεπώς αζωοσπερμία) είτε σε ανεξέλεγκτο υπερπολλαπλασιασμό. Τα ncRNAs λειτουργούν ως βασικοί διακόπτες σε αυτή τη διαδικασία.

- **miR-34c:** Αποπτωτική ρύθμιση και διαφοροποίηση Η οικογένεια των miR-34 (και ειδικότερα το miR-34c) εκφράζεται σε πολύ υψηλά επίπεδα στα μεταμιτωτικά σπερματογενετικά κύτταρα. Το miR-34c διαδραματίζει διπλό ρόλο στα SSCs και τα πρώιμα σπερματογόνια. Αφενός, προωθεί τη διαφοροποίηση των σπερματογονικών βλαστοκυττάρων στοχεύοντας και καταστέλλοντας τον παράγοντα Nanos2 (Yu et al., 2014). Αφετέρου, λειτουργεί ως ισχυρός ρυθμιστής της απόπτωσης στα αρσενικά γεννητικά κύτταρα, στοχεύοντας άμεσα τον μεταγραφικό παράγοντα ενεργοποίησης ATF1 (Liang et al., 2012). Η βιολογική σημασία αυτού του ρυθμιστικού δικτύου επιβεβαιώθηκε in vivo: η ταυτόχρονη γενετική απαλοιφή (knockout) των λειτουργικά συγγενών συστάδων miR-34b/c και miR-449 προκαλεί σοβαρές διαταραχές στη μείωση και τα τελικά στάδια ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων, οδηγώντας σε ολιγοασθενοτεροζωοσπερμία (OAT) και ανδρική στειρότητα (Wu et al., 2014).
- **miR-122:** Κυτταρικός πολλαπλασιασμός και σπερματική ωρίμανση (χρωματίνη) Το miR-122-5p εμφανίζει σταθερή και υψηλή έκφραση στους όρχεις και συμμετέχει ενεργά στη βιολογία των SSCs (Zhou et al., 2020). Σε in vitro μελέτες σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές SSCs, αποδείχθηκε ότι το miR-122-5p διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη σύνθεση DNA, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει την πρόωγη απόπτωσή τους (Zhou et al., 2020). Ο μηχανισμός αυτός επιτυγχάνεται μέσω της άμεσης στόχευσης του γονιδίου CBL (μιας ουβικιτίνης λιγάσης E3). Είναι ενδιαφέρον ότι η διαθέσιμη ποσότητα του miR-122-5p ρυθμίζεται ανταγωνιστικά από το lncRNA CASC7, δείχνοντας τη λειτουργία ενός

δικτύου ceRNA εντός της στελεχιαίας νίσχης (Zhou et al., 2020). Πέραν της νίσχης, το miR-122-5p είναι αναγκαίο για τα τελικά στάδια της σπερμιογένεσης και τη σπερματική ωρίμανση. Ελέγχει αυστηρά την έκφραση της Πρωτεΐνης Μετάπτωσης 2 (TNF2 - Transition Protein 2), η οποία είναι αναγκαία για τη σωστή αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες (Liu et al., 2013). Ανωμαλίες στη ρύθμιση του miR-122 οδηγούν σε ατελή συμπύκνωση (compaction) της χρωματίνης και στον σχηματισμό κενοτοπίων στην κεφαλή του σπερματοζωαρίου, χαρακτηριστικά που ανευρίσκονται συχνά σε υπογόνιμους άνδρες.

4.2.2 piRNAs και ανδρική γεννητική γραμμή

Κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, τα άρρενα γεννητικά κύτταρα υφίστανται εκτεταμένο επιγενετικό αναπρογραμματισμό και ριζική αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, γεγονός που καθιστά το γονιδίωμά τους ευάλωτο. Σε αυτήν την κρίσιμη φάση, τα piRNAs (PIWI-Interacting RNAs) αναλαμβάνουν τον ρόλο των βασικών ρυθμιστών της διαφοροποίησης και των “φυλάκων” της γονιδιωματικής ακεραιότητας στην ανδρική γεννητική γραμμή.

Ο ρόλος των πρωτεϊνών PIWI (MILI, MIWI, MIWI2)

Η βιολογική λειτουργία των piRNAs διαμεσολαβείται αποκλειστικά από την πρόσδεσή τους σε μια ειδική υποοικογένεια πρωτεϊνών Argonaute, γνωστών ως πρωτεΐνες PIWI. Στα ζωικά μοντέλα, οι κύριες πρωτεΐνες της οικογένειας είναι οι MIWI (PIWIL1), MILI (PIWIL2) και MIWI2 (PIWIL4). Στον άνθρωπο, τα αντίστοιχα ομόλογα γονίδια εκφράζονται με αυστηρή χωροχρονική αλληλουχία κατά την ανάπτυξη των όρχεων: οι πρωτεΐνες PIWIL1 και PIWIL2 εκφράζονται καθ’ όλη τη διάρκεια της μεταγεννητικής σπερματογένεσης, ενώ η PIWIL4 εντοπίζεται κυρίως στα πρώιμα σπερματογόνια (Li et al., 2024).

Η δράση του συμπλόκου PIWI-piRNA στην ανδρική γεννητική γραμμή χωρίζεται ιστολογικά και λειτουργικά σε δύο κύρια κύματα (Li et al., 2024):

- Προ-παχυτενικά piRNAs (Pre-pachytene piRNAs): Το πρώτο κύμα εμφανίζεται στα εμβρυϊκά και πρώιμα μεταγεννητικά σπερματογόνια βλαστοκύτταρα. Τα RNA αυτά



συνδέονται κυρίως με τις πρωτεΐνες MILI και MIWI2 (PIWIL2 και PIWIL4). Ο πρωταρχικός τους ρόλος είναι η αναγνώριση και η ισχυρή σίγηση (μέσω αποδόμησης του RNA και de novo μεθυλίωσης του DNA) των κινητών γενετικών στοιχείων, όπως τα ρετροτρανσποζόνια LINE-1. Αυτός ο αμυντικός μηχανισμός αποτρέπει την ανεξέλεγκτη μετακίνηση των τρανσποζονίων, η οποία θα προκαλούσε ανεπανόρθωτες ρήξεις στο DNA και καταστροφή των γαμετών.

- Παχυτενικά piRNAs (Pachytene piRNAs): Το δεύτερο κύμα παράγεται μαζικά στα κύτταρα που εισέρχονται στη μειωτική διαίρεση (παχυτενικά σπερματοκύτταρα) και συνδέεται κυρίως με την πρωτεΐνη MIWI (PIWIL1). Σε αντίθεση με το πρώτο κύμα, η συντριπτική πλειονότητα αυτών των piRNAs δεν φέρει αλληλουχίες τρανσποζονίων. Αντιθέτως, λειτουργούν ως ισχυροί μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές. Στα τελευταία στάδια της σπερμιογένεσης, το σύμπλοκο MIWI-piRNA στρατολογεί το ένζυμο αποαδενυλίωσης CAF1, πυροδοτώντας τη μαζική αποδόμηση χιλιάδων μητρικών mRNA (massive mRNA elimination) (Gou et al., 2014). Η διαδικασία αυτή είναι αναγκαία προκειμένου οι σπερματίδες να σταματήσουν την παραγωγή περιττών πρωτεϊνών, επιτρέποντας την επιμήκυνσή τους και τη συμπύκνωση της χρωματίνης τους (Gou et al., 2014; Li et al., 2024).

Σύνδεση με την Ανδρική Υπογονιμότητα

Πειραματικά δεδομένα έχουν καταδείξει επανειλημμένα ότι η γενετική απάλειψη (knockout) οποιασδήποτε από τις πρωτεΐνες PIWI οδηγεί σε απόλυτη στειρότητα στους άρρενες οργανισμούς, λόγω μη αναστρέψιμης αναστολής της μείωσης (meiotic arrest). Η έλλειψη της MIWI προκαλεί αναστολή στο στάδιο της στρογγυλής σπερματίδας, ενώ η έλλειψη των MILI ή MIWI2 διακόπτει την κυτταρική εξέλιξη νωρίτερα, στο στάδιο των σπερματοκυττάρων (Li et al., 2024).

Η άμεση κλινική σημασία του μονοπατιού αυτού στην ανθρώπινη αναπαραγωγή επιβεβαιώθηκε πρόσφατα μέσω εκτεταμένων γενετικών ελέγχων. Σύγχρονες μελέτες έχουν εντοπίσει δι-αλληλόμορφες (biallelic) γενετικές μεταλλάξεις σε γονίδια του μονοπατιού

PIWI/piRNA —όπως τα PIWIL1, GTSF1, GPAT2, MAEL, TDRD1 και DDX4— σε ασθενείς με σοβαρή ιδιοπαθή υπογονιμότητα (Stallmeyer et al., 2024). Παράλληλα, παραλλαγές σε άλλα γονίδια, όπως το MOV10L1, έχουν επίσης αναφερθεί σε μεμονωμένες περιπτώσεις (case variants) με παρόμοια κλινική εικόνα (Hong et al., 2025). Στους άνδρες αυτούς, η κλινική εικόνα περιλαμβάνει φαινότυπους όπως η μη-αποφρακτική αζωοσπερμία (NOA), η σοβαρή ολιγοζωοσπερμία και το σύνδρομο “μόνο κύτταρα Sertoli” (Sertoli-cell-only syndrome) (Hong et al., 2025; Stallmeyer et al., 2024). Η λεπτομερής ανάλυση του ορχικού ιστού των ασθενών έδειξε σημαντική μείωση στη βιογένεση των παχυτενικών piRNAs και ταυτόχρονη, παθολογική υπερέκφραση (de-repression) των ρετροτρανσποζονίων LINE-1 στα σπερματογόνια (Stallmeyer et al., 2024). Καθίσταται σαφές ότι η ακεραιότητα του άξονα PIWI-piRNA αποτελεί απόλυτη προϋπόθεση για τη φυσιολογική σπερματογένεση, προσφέροντας παράλληλα νέα, ισχυρά εργαλεία για τη μοριακή διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας.

4.2.3 lncRNAs στη σπερματογένεση

Εκτός από τα μικρά ncRNAs, ένας αυξανόμενος αριθμός μακρών μη κωδικοποιούντων RNAs (lncRNAs) έχει ταυτοποιηθεί να εκφράζεται δυναμικά στους όρχεις των θηλαστικών, συμβάλλοντας σε κομβικά σημεία της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης και της κυτταρικής διαφοροποίησης κατά τη σπερματογένεση.

- lncRNA HOTAIR: Προστασία του σπέρματος από το οξειδωτικό στρες Το lncRNA HOTAIR (HOX transcript antisense RNA), μολονότι ευρέως μελετημένο για τον ρόλο του στην ογκογένεση, λειτουργεί ως βασικός ρυθμιστής και προστάτης των σπερματοζωαρίων έναντι του οξειδωτικού στρες. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης του HOTAIR είναι σημαντικά μειωμένα σε δείγματα σπέρματος ανδρών με ασθενοζωοσπερμία (μειωμένη κινητικότητα) και ολιγοασθενοτερατοζωοσπερμία, συγκριτικά με γόνιμους μάρτυρες (Asl et al., 2023; Zhang et al., 2015). Σε μοριακό επίπεδο, η καταστολή του HOTAIR συσχετίζεται άμεσα με τη μειωμένη έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Nrf2 (κεντρικού ρυθμιστή της κυτταρικής αντιοξειδωτικής άμυνας) και τη μειωμένη δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) (Zhang

et al., 2015). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), την πρόκληση βλαβών στο DNA του σπέρματος και τελικά την υποβάθμιση της κινητικότητας (Asl et al., 2023). Επιπρόσθετα, αλληλουχίσεις (WGS) σε υπογόνιμους ασθενείς με μη-αποφρακτική αζωοσπερμία (NOA) έχουν αναδείξει ειδικές παραλλαγές (variants) στο γονίδιο του HOTAIR, δείχνοντας περαιτέρω τη γενετική του σύνδεση με την ανδρική υπογονιμότητα.

- **lncRNA Tsx:** Ρυθμιστής της μείωσης Το lncRNA Tsx (Testis-specific X-linked) κωδικοποιείται από ένα γονίδιο στο κέντρο αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X και εκφράζεται με απόλυτη εξειδίκευση στον ορχικό ιστό. Ειδικότερα, η έκφρασή του εντοπίζεται σε πολύ υψηλά επίπεδα αποκλειστικά στα παχυτενικά σπερματοκύτταρα (pachytene spermatocytes). Πειράματα γενετικής απαλοιφής (knockout) σε ποντίκια *in vivo* απέδειξαν ότι η απουσία του lncRNA Tsx οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των όρχεων και πυροδοτεί μαζική, ειδική απόπτωση των παχυτενικών σπερματοκυττάρων (Anguera et al., 2011). Αυτό υποδηλώνει ότι το Tsx είναι αναγκαίο για την επιβίωση των κυττάρων και την ομαλή εξέλιξη της μειωτικής διαίρεσης.
- **lncRNA Mrhl:** Σπερματογονική διαφοροποίηση και σηματοδότηση Wnt Το lncRNA Mrhl (meiotic recombination hot spot locus) είναι ένα πυρηνικό μακρύ μη κωδικοποιούν RNA, μήκους περίπου 2.4 kb, το οποίο ελέγχει τη μετάβαση από τη μίτωση στη μείωση. Σε μυϊκή σπερματογονική κυτταρική σειρά (mouse Gc1-Spg cell line), το Mrhl δρα ως ένας αρνητικός ρυθμιστής του μονοπατιού σηματοδότησης Wnt, αλληλεπιδρώντας φυσικά με την πρωτεΐνη Ddx5/p68 (μια RNA ελικάση) (Arun et al., 2012). Για να εισέλθουν τα σπερματογόνια τύπου B στη μείωση (meiotic commitment), απαιτείται η ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt, η οποία με τη σειρά της προκαλεί ισχυρή καταστολή της έκφρασης του Mrhl. Η καταστολή αυτή επιτρέπει την αλλαγή στη δομή της χρωματίνης (chromatin looping) και την ενεργοποίηση γονιδίων-κλειδιών για τη μείωση, όπως ο μεταγραφικός παράγοντας Sox8 (Arun et al., 2012). Πρέπει να σημειωθεί ότι ένα συντηρημένο ανθρώπινο ομόλογο (το Hmrhl, μήκους 5.5 kb) εντοπίζεται αντίστοιχα στο ανθρώπινο

γονιδίωμα, υποδηλώνοντας πιθανό συντηρημένο ρόλο και στην ανθρώπινη ανδρική γονιμότητα.

4.3 ncRNAs ως δείκτες ποιότητας γαμετών

Η επιτυχία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Εξωσωματική Γονιμοποίηση - IVF / Ενδοκυτταροπλασματική Σπερματέγχυση - ICSI) εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επιλογή των πλέον ικανών γαμετών και βιώσιμων εμβρύων. Μέχρι σήμερα, η αξιολόγηση στα εμβρυολογικά εργαστήρια βασίζεται κυρίως σε μορφολογικά και κινητικά κριτήρια, τα οποία ωστόσο χαρακτηρίζονται από περιορισμένη προγνωστική ακρίβεια και αδυνατούν να εντοπίσουν υποκείμενες μοριακές ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Huang et al., 2023). Τα μη κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs) έρχονται να καλύψουν αυτό το κενό, λειτουργώντας ως ισχυροί, μη επεμβατικοί βιοδείκτες (non-invasive biomarkers). Λόγω της μοναδικής τους ανθεκτικότητας στην αποδόμηση από ριβονουκλεάσες (RNases), εντοπίζονται σταθερά σε βιολογικά υγρά όπως το ωοθυλακικό υγρό, το σπερματικό πλάσμα, και το υγρό καλλιέργειας εμβρύων, αντανakλώντας με ακρίβεια το “μοριακό ιστορικό” των κυττάρων (Huang et al., 2023).

Πίνακας 4.1: Ενδεικτικά ncRNAs ως βιοδείκτες στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή

ncRNA	Είδος Γαμέτη / Δείγμα	Κλινικό Εύρημα / Σημασία	Πηγή
miR-21	Ωοκύτταρο (Ωοθυλακικό Υγρό)	Η αυξημένη έκφρασή του σχετίζεται με επιτυχή ωρίμανση (στάδιο MII) και αποτελεί διαγνωστικό δείκτη για τη λήψη καλής ποιότητας εμβρύων σε κύκλους ICSI.	(Jenabi et al., 2023)
hsa-miR-661, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-372-5p	Έμβρυο (Υγρό Καλλιέργειας - SCM)	Εκφράζονται διαφορικά στο υγρό καλλιέργειας προεμφυτευτικών εμβρύων και σχετίζονται άμεσα με την αναπτυξιακή δυναμική του εμβρύου έως το στάδιο της βλαστοκύστης.	(Omes et al., 2024)
sncRNAs (γενικά)	Γαμέτες & Έμβρυα (Βιολογικά Υγρά)	Αποτελούν ισχυρούς μη επεμβατικούς βιοδείκτες με μεγάλη ακρίβεια στην πρόβλεψη της ποιότητας των εμβρύων και της τελικής έκβασης της κύησης.	(Huang et al., 2023)

miR-122	Σπερματοζώριο (Σπέρμα)	Τα μειωμένα επίπεδα συνδέονται με ατελή συμпыκνωση χρωματίνης (μέσω της πρωτεΐνης TNP2) και ανιχνεύονται σε ασθενείς με ανώμαλη ανάπτυξη σπέρματος.	(Liu et al., 2013)
miR-34b/c & miR-449	Σπερματοζώριο (Όρχεις / Σπέρμα)	Η έλλειψή τους μπλοκάρει τη μείωση και την ωρίμανση του σπέρματος, οδηγώντας σε ολιγοασθενοτεροζωοσπερμία και ανδρική στειρότητα.	(Wu et al., 2014)

Κλινική σημασία για την Εξωσωματική Γονιμοποίηση (IVF)

Η ενσωμάτωση του προφίλ των ncRNAs στην καθημερινή κλινική πράξη της IVF υπόσχεται να αντιμετωπίσει θεμελιώδη προβλήματα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής:

- Αξιολόγηση Ωοκυτταρικής Επάρκειας: Το ωοθυλακικό υγρό παρέχει το άμεσο μικροπεριβάλλον ανάπτυξης του ωοκυττάρου. Αναλύοντας τα miRNAs (π.χ. miR-21) στο υγρό αυτό, οι κλινικοί ιατροί μπορούν να ανιχνεύσουν εάν το ωοκύτταρο έχει επιτύχει την απαραίτητη ωριμότητα για γονιμοποίηση, μειώνοντας τα ποσοστά αποτυχίας κατά την τεχνική ICSI (Jenabi et al., 2023).
- Πρόβλεψη Ποιότητας Σπέρματος: Στην ανδρική υπογονιμότητα, το κλασικό σπερμοδιάγραμμα συχνά αδυνατεί να εξηγήσει τις περιπτώσεις ιδιοπαθούς υπογονιμότητας. Τα μικρά RNAs στο σπέρμα (όπως τα miR-122 και η οικογένεια miR-34b/c) αντανακλούν το πλήρες ιστορικό της σπερματογένεσης (Liu et al., 2013; Wu et al., 2014). Η δυσρύθμισή τους υποδεικνύει κρυφές βλάβες στη δομή της χρωματίνης και αποτυχία στη μείωση, διευκολύνοντας την απόφαση για στοχευμένη εφαρμογή εξειδικευμένων τεχνικών (Liu et al., 2013; Wu et al., 2014).
- Επιλογή Εμβρύου: Η μεγαλύτερη κλινική πρόκληση της IVF είναι η ασφαλής επιλογή του βέλτιστου εμβρύου για εμβρυομεταφορά. Η σύγχρονη τάση επικεντρώνεται στο υγρό καλλιέργειας εμβρύων (Spent Culture Medium - SCM). Καθώς τα έμβρυα αναπτύσσονται, εκκρίνουν miRNAs στο υγρό. Η μοριακή “ανάγνωση” συγκεκριμένων προφίλ (όπως τα hsa-miR-661, hsa-miR-21-5p και hsa-miR-372-5p) διαχωρίζει τα έμβρυα που θα

εξελιχθούν ομαλά σε βλαστοκύστες από εκείνα που θα εκφυλιστούν (degenerate), προσφέροντας μια απόλυτα μη επεμβατική εναλλακτική λύση αξιολόγησης (Huang et al., 2023; Omes et al., 2024).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ncRNAs στον Ωοθυλακικό Κύκλο, Ωορρηξία και Εμφύτευση

5.1 Ωοθυλακική ανάπτυξη και ωορρηξία

Η ωοθυλακιογένεση αποτελεί μια δυναμική και πολυεπίπεδη διαδικασία, η οποία χαρακτηρίζεται από τη στενή επικοινωνία μεταξύ του ωαρίου και των περιβαλλόντων σωματικών κυττάρων (κοκκιώδη και θηκικά κύτταρα). Ενώ η κλασική ενδοκρινολογία επικεντρώνεται στη δράση των γοναδοτροπινών μέσω των υποδοχέων τους, η σύγχρονη μοριακή βιολογία αποκαλύπτει ότι ένα μεγάλο μέρος αυτής της ορμονικής απόκρισης ενορχηστρώνεται από microRNAs (miRNAs). Αυτά τα μικρά ncRNAs δρουν ως μετα-μεταφραστικοί ρυθμιστές, λεπτομερώς συντονίζοντας την έκφραση γονιδίων που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό, τη στεροειδογένεση και την επιβίωση των κυττάρων.

Ο Ρόλος των Γοναδοτροπινών LH/FSH στην Αναδιαμόρφωση του miRNA

Η ωοθηκική λειτουργία εξαρτάται από τον άξονα Υποθαλάμου-Υπόφυσης-Ωοθηκών (HPO). Η FSH και η LH συνδέονται με τους υποδοχείς τους (FSHR και LHCGR), οι οποίοι είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες, ενεργοποιώντας το μονοπάτι cAMP/PKA. Η ενεργοποίηση αυτή δεν επάγει μόνο τη μεταγραφή πρωτεϊνοκωδικοποιητικών γονιδίων, αλλά προκαλεί μια ραγδαία και “κυματική” αλλαγή στο miRNA τοπίο των κοκκιωδών κυττάρων (GCs).

Κατά την ωοθυλακική φάση, η FSH είναι ο κύριος παράγοντας που προάγει την επιβίωση των κυττάρων. Ένας σημαντικός μηχανισμός που ανακαλύφθηκε πρόσφατα περιλαμβάνει την επίδραση των ανδρογόνων στην ευαισθησία των κυττάρων στην FSH (Sen et al., 2014). Τα ανδρογόνα, δρώντας μέσω του υποδοχέα ανδρογόνων (AR), αυξάνουν την έκφραση του miR-125b. Το miR-125b λειτουργεί ως ισχυρός αντι-αποπτωτικός παράγοντας, καταστέλλοντας γονίδια που προάγουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, τα ανδρογόνα ενισχύουν την έκφραση της πρωτεΐνης FSHR μέσω ενός μηχανισμού που εξαρτάται από τη

σκαλωσιά της παξιλίνης (paxillin), χωρίς να μεταβάλλουν τα επίπεδα του mRNA, υποδηλώνοντας μια ncRNA-μεσολαβούμενη ρύθμιση της μετάφρασης (Sen et al., 2014).

Η απότομη άνοδος της LH (LH surge) αποτελεί το έναυσμα για την ωορρηξία και προκαλεί μια “επιγενετική αναδιάρθρωση”. Μέσα σε 2 έως 4 ώρες από την έκθεση στην LH, παρατηρείται υπερέκφραση δεκάδων miRNAs που στοχεύουν γονίδια του κυτταρικού κύκλου, όπως οι κυκλίνες, προκαλώντας τη διακοπή του πολλαπλασιασμού των GCs και την έναρξη της διαφοροποίησής τους προς ωχρινικά κύτταρα (Fiedler et al., 2008). Στην κλινική πράξη της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF), η χρήση rLH επιπρόσθετα της rFSH έχει δείχθει ότι τροποποιεί το προφίλ των μητρικών miRNAs στα ωάρια, επηρεάζοντας την ικανότητά τους για μελλοντική εμβρυϊκή ανάπτυξη (Konstantinidou et al., 2023).

Σύμπλεγμα miR-132/212: Ρύθμιση του COUP-TFII και της Προγεστερόνης

Το σύμπλεγμα miR-132/212 αποτελεί το “πρότυπο” miRNAs που αποκρίνονται στην LH. Αυτά τα δύο miRNAs μοιράζονται κοινή περιοχή σποράς (seed sequence) και μεταγράφονται από την ίδια γενετική θέση υπό τον έλεγχο του μεταγραφικού παράγοντα CREB (Fiedler et al., 2008).

Ο Μοριακός Μηχανισμός Καταστολής του NR2F2 (COUP-TFII)

Ο κύριος στόχος αυτού του συμπλέγματος στα κοκκιώδη κύτταρα είναι ο ορφανός πυρηνικός υποδοχέας COUP-TFII (γνωστός και ως NR2F2). Φυσιολογικά, ο COUP-TFII δρα ως καταστολέας της στεροειδογένεσης στα προ-ωορρηκτικά ωοθυλάκια. Μετά την αιχμή της LH, το miR-132 και το miR-212 συνδέονται στη 3' UTR περιοχή του mRNA του NR2F2, οδηγώντας σε δραστική μείωση της πρωτεΐνης του (Fiedler et al., 2008). Αυτή η μείωση του COUP-TFII είναι απαραίτητη για τη μετάβαση στην ωχρινική φάση, καθώς αίρει την καταστολή από γονίδια-κλειδιά όπως το StAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein - η πρωτεΐνη που μεταφέρει τη χοληστερόλη στα μιτοχόνδρια) και το 3β-HSD (3β-hydroxysteroid dehydrogenase - το ένζυμο που μετατρέπει την πρεγνενολόνη σε προγεστερόνη). Ο μηχανισμός αυτός διασφαλίζει ότι το ωοθυλάκιο θα ξεκινήσει την ταχεία παραγωγή προγεστερόνης (P4) που είναι απαραίτητη για την προετοιμασία του ενδομητρίου. Διαταραχές σε αυτόν τον άξονα έχουν συσχετιστεί με ανεπάρκεια της ωχρινικής φάσης και υπογονιμότητα.

miR-224: Σηματοδότηση TGF-β και Διαφοροποίηση Κοκκιωδών Κυττάρων

Η υπεροικογένεια TGF-β (συμπεριλαμβανομένων των GDF9 και BMP15) είναι μεγάλης σημασίας για την επικοινωνία ωαρίου-σωματικών κυττάρων. Το miR-224 έχει αναγνωριστεί ως ο βασικός ρυθμιστής που καθορίζει την ένταση αυτής της σηματοδότησης.

Στόχευση του SMAD4 και Πολλαπλασιασμός

Το miR-224 στοχεύει άμεσα το SMAD4, την κοινή πρωτεΐνη-διαμεσολαβητή (co-SMAD) που απαιτείται για τη μεταφορά όλων των TGF-β σημάτων στον πυρήνα (Yao et al., 2010). Η υπερέκφραση του miR-224 μειώνει τα επίπεδα του SMAD4, γεγονός που παραδόξως ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των GCs που επάγεται από τον TGF-β1 (Yao et al., 2010). Αυτό υποδηλώνει ότι το miR-224 λειτουργεί ως ρυθμιστής “αρνητικής ανάδρασης” που εμποδίζει την υπερβολική καταστολή του κυτταρικού κύκλου από τους αυξητικούς παράγοντες. Επιπλέον, το miR-224 επηρεάζει τη στεροειδογένεση ρυθμίζοντας τα επίπεδα του mRNA της αρωματάσης (CYP19A1), αυξάνοντας έτσι την έκκριση οιστραδιόλης (E2). Η έκφραση του ίδιου του miR-224 βρίσκεται υπό τον έλεγχο των p53 και p65 (NF-κB), δημιουργώντας μια γέφυρα μεταξύ της ορμονικής απόκρισης και των μηχανισμών κυτταρικού στρες (Yao et al., 2010).

miR-320: Ωοθυλακικό Υγρό, Εξωσώματα και Κυτταρική “Αναζωογόνηση”

Το ωοθυλακικό υγρό (FF) δεν είναι απλό έκκριμα, αλλά ένα πλούσιο περιβάλλον επικοινωνίας μέσω εξωσωμάτων που μεταφέρουν miRNAs. Το miR-320 έχει αναδειχθεί σε έναν από τους σημαντικότερους βιοδείκτες ποιότητας σε αυτό το περιβάλλον (Feng et al., 2015; Sang et al., 2013).

Ο Άξονας miR-320a-3p/FOXQ1 στην Ωοθηκική Γήρανση

Πρόσφατα δεδομένα εντόπισαν έναν αξιοπρόσεκτο μηχανισμό: εξωσώματα από το FF νεαρών γυναικών μπορούν να “αναζωογονήσουν” γηρασμένα κοκκιώδη κύτταρα (Liu et al., 2024). Αυτή η δράση μεσολαβείται από το miR-320a-3p, το οποίο εισέρχεται στα εξωσώματα μέσω της πρωτεΐνης hnRNPA2B1. Μέσα στο κύτταρο-στόχο, το miR-320a-3p καταστέλλει τον

μεταγραφικό παράγοντα FOXQ1 (Forkhead Box Q1) (Liu et al., 2024). Η καταστολή αυτή οδηγεί σε:

- Μιτοχονδριακή Ενίσχυση: Αύξηση του αριθμού αντιγράφων mtDNA και της παραγωγής ATP.
- Μείωση ROS: Περιορισμό του οξειδωτικού στρες που καταστρέφει το ωάριο.
- Αντι-αποπτωτική Δράση: Μείωση των Caspases 3/9 και αύξηση της αναλογίας BCL2/BAX.

Αυτά τα ευρήματα καθιστούν το miR-320 όχι μόνο διαγνωστικό δείκτη για την ποιότητα των εμβρύων στην IVF (Feng et al., 2015), αλλά και έναν εν δυνάμει θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση της μειωμένης ωοθηκικής εφεδρείας (DOR) (Liu et al., 2024).

5.2 Ωχρινοποίηση

Η ωχρινοποίηση αποτελεί τη διαδικασία μετασχηματισμού του ραγέντος ωοθυλακίου σε ωχρό σωματίο (Corpus Luteum - CL), έναν παροδικό αλλά σημαντικό ενδοκρινή αδένα. Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από τη διαφοροποίηση των κοκκιωδών κυττάρων σε μεγάλα ωχρινικά κύτταρα και των θηκικών κυττάρων σε μικρά ωχρινικά κύτταρα, με κύριο στόχο την παραγωγή προγεστερόνης (P4) για την υποστήριξη της εγκυμοσύνης. Η μοριακή αυτή μετάβαση ενορχηστρώνεται από ένα περίπλοκο δίκτυο ncRNAs, τα οποία ρυθμίζουν τη στεροειδογένεση, την αγγειογένεση και τη δομική σταθερότητα του ιστού (Tariq et al., 2026).

ncRNAs στη Λειτουργία του Ωχρού Σωματίου και Ρύθμιση της Προγεστερόνης

Η σύνθεση της προγεστερόνης εξαρτάται από τον ακριβή συντονισμό ενζύμων όπως η πρωτεΐνη STAR και το ένζυμο 3β-HSD. Τα miRNAs δρουν ως μετα-μεταφραστικοί ρυθμιστές αυτών των μονοπατιών σε απόκριση στην ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH).

- Ο Άξονας miR-96/FOXO1 Ένας από τους σημαντικότερους ρυθμιστές της επιβίωσης των ωχρινικών κυττάρων είναι το miR-96. Έρευνες σε ανθρώπινα ωχρινικά κοκκιώδη κύτταρα (hLGCs) και βοοειδή έδειξαν ότι το miR-96 στοχεύει άμεσα τον μεταγραφικό παράγοντα FOXO1 (Mohammed et al., 2017). Η καταστολή του FOXO1 από το miR-96 αποτρέπει την

απόπτωση και ενισχύει τη σύνθεση προγεστερόνης, καθώς και την έκφραση της αρωματάσης (CYP19A1) και του παράγοντα SF-1. Η αναστολή του miR-96 οδηγεί σε σημαντική μείωση της παραγωγής P4, δείχνοντας το ρόλο του στη διατήρηση της ωχρινικής λειτουργίας (Mohammed et al., 2017).

- miR-378 και η «Στροφή» της Στεροειδογένεσης Κατά τη μετάβαση από το ωοθυλάκιο στο ωχρό σωματίο, η παραγωγή οιστραδιόλης (E2) πρέπει να κατασταλεί υπέρ της προγεστερόνης. Το miR-378 παίζει βασικό ρόλο σε αυτή τη στροφή, στοχεύοντας άμεσα το mRNA της αρωματάσης (CYP19A1) (Pan et al., 2015). Στο ωχρό σωματίο, η αύξηση του miR-378 μειώνει τα επίπεδα των οιστρογόνων, ενώ παράλληλα προστατεύει τα κύτταρα από την απόπτωση στοχεύοντας τον υποδοχέα της ιντερφερόνης γάμμα (IFNGR1) (Pan et al., 2015).

lncRNA NEAT1 και Ωχρινική Φάση

Το long non-coding RNA NEAT1 αποτελεί τη δομική βάση των πυρηνικών παραστιγμάτων (paraspeckles), τα οποία είναι απαραίτητα για τη σταθερότητα του CL κάτω από συνθήκες στρες (Nakagawa et al., 2014).

- Μηχανισμός SFPQ και Στοχαστική Υπογονιμότητα Σε πειραματικά μοντέλα (Neat1 KO ποντίκια), η έλλειψη του NEAT1 οδηγεί σε «στοχαστική υπογονιμότητα». Παρόλο που η ωορρηξία είναι φυσιολογική, το ωχρό σωματίο αποτυγχάνει να αναπτυχθεί σωστά (Type III phenotype), οδηγώντας σε χαμηλά επίπεδα προγεστερόνης και αποτυχία εμφύτευσης. Ο μηχανισμός περιλαμβάνει την απελευθέρωση της πρωτεΐνης SFPQ στο νουκλεόπλασμα, η οποία καταστέλλει γονίδια-κλειδιά της ωχρινοποίησης, όπως τα STAR, CYP11A1 και VEGFA (Nakagawa et al., 2014).
- NEAT1 και Ενδομητρική Δεκτικότητα Η δράση του NEAT1 εκτείνεται πέρα από την ωοθήκη. Στο ενδομήτριο, το NEAT1 ρυθμίζει τη δεκτικότητα μέσω του άξονα NEAT1/CTCF/HOXA10 (Geng et al., 2022). Η μείωση του NEAT1 σε περιπτώσεις υπογονιμότητας οδηγεί σε μειωμένη έκφραση του HOXA10, παρεμποδίζοντας τον σχηματισμό των πινοποδίων και την εμβρυϊκή προσκόλληση (Geng et al., 2022).

Circular RNAs (circRNAs) ως Ρυθμιστές του CL

Τα circRNAs προσδίδουν μια νέα διάσταση στη ρύθμιση του ωχρού σωματίου λόγω της υψηλής σταθερότητάς τους.

- ciR-01114: Δρα ως διεγέρτης της ωχρινικής λειτουργίας. Η υπερέκφρασή του αυξάνει τη βιωσιμότητα των κυττάρων και την έκκριση προγεστερόνης, τεστοστερόνης και ωκυτοκίνης (Faboná et al., 2025).
- ciR-02852: Λειτουργεί ως φυσιολογικός αναστολέας (inhibitor). Η παρουσία του μειώνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την ορμονική παραγωγή, ενώ επάγει την απόπτωση μέσω της αύξησης των BAX και της κασπάσης-3 (Faboná et al., 2026).
- ciR-00596 και ciR-00646: Εμφανίζουν αντίρροπες δράσεις, με το πρώτο να ενισχύει και το δεύτερο να καταστέλλει τη στεροειδογενετική ικανότητα και τη βιωσιμότητα των κυττάρων (Sirotkin et al., 2024).

5.3 Δεκτικότητα ενδομητρίου

Η ενδομητρική δεκτικότητα αποτελεί το πλέον καθοριστικό και περιοριστικό στάδιο στην ανθρώπινη αναπαραγωγή, καθώς απαιτεί τον απόλυτο συγχρονισμό μεταξύ ενός αναπτυξιακά ικανού εμβρύου και ενός προετοιμασμένου ενδομητρίου. Η κατάσταση αυτή περιορίζεται χρονικά στο «παράθυρο εμφύτευσης» (Window of Implantation - WOI), μια περίοδο 4–5 ημερών κατά τη μέση εκκριτική φάση (συνήθως ημέρες 20–24), όπου το ενδομήτριο υφίσταται ριζικές μορφολογικές και μοριακές αλλαγές υπό την επίδραση της προγεστερόνης (P4). Πρόσφατες έρευνες εστιάζουν στα μη-κωδικοποιητικά RNAs (ncRNAs) ως τους βασικούς «ρεοστάτες» που ρυθμίζουν αυτό το τοπίο, συντονίζοντας την έκφραση των γονιδίων δεκτικότητας (Receptivity-Associated Genes - RAGs).

Το Τοπίο των miRNAs στο «Παράθυρο Εμφύτευσης» (WOI)

Κατά τη διάρκεια του WOI, το miRNA landscape του ενδομητρίου μεταβάλλεται δυναμικά για να επιτρέψει την προσκόλληση της βλαστοκύστης. Η οικογένεια miR-30, και ειδικότερα το miR-30d, εμφανίζει τη σημαντικότερη αυξητική ρύθμιση σε δεκτικά ενδομήτρια. Το miR-30d λειτουργεί

ως upstream τροποποιητής, καταστέλλοντας τον αναστολέα SOCS1 και ενεργοποιώντας το μονοπάτι JAK-STAT3. Αυτή η ενεργοποίηση προάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, όπως οι ιντεγκρίνες ανβ3, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αρχική επαφή εμβρύου-μητέρας. Αντιθέτως, η παθολογική υπερέκφραση ορισμένων miRNAs συνδέεται άμεσα με την επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης (RIF). Για παράδειγμα, τα miR-135a/b και miR-145 βρίσκονται συχνά αυξημένα σε ασθενείς με RIF, οδηγώντας στη σίγηση γονιδίων-κλειδιών για τη φθαρτοποίηση και την ενδομητρική ωρίμανση (Cheng et al., 2019).

miR-145: Ο Μοριακός Μηχανισμός Αναστολής του HOXA10

Το γονίδιο HOXA10 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας-κλειδί, απαραίτητος για τη διαφοροποίηση των στρωματικών κυττάρων και την ανάπτυξη των πινοποδίων. Το miR-145 έχει αναγνωριστεί ως ο κύριος αρνητικός ρυθμιστής του HOXA10 (Cheng et al., 2019).

- **Μηχανισμός RIF:** Σε γυναίκες με RIF, το miR-145-5p συνδέεται άμεσα στην 3' UTR περιοχή του mRNA του HOXA10, καταστέλλοντας τη μετάφρασή του (Cheng et al., 2019). Αυτή η καταστολή εμποδίζει τη μεταμόρφωση των στρωματικών ινοβλαστών σε φθαρτοποιημένα κύτταρα, μειώνοντας την παραγωγή βασικών δεικτών όπως η προλακτίνη (PRL) και η IGFBP1, ενώ παράλληλα διαταράσσει την αγγειογένεση μέσω του άξονα VEGF (Cheng et al., 2019).
- **Σύνδεση με Υδροσάλπιγγα:** Η παρουσία υγρού υδροσάλπιγγας προκαλεί μια φλεγμονώδη απόκριση στο ενδομήτριο που αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα του miR-145 (Wang et al., 2021). Αυτό οδηγεί σε ταυτόχρονη καταστολή του υποδοχέα IGF1R, μειώνοντας την ικανότητα προσκόλλησης της βλαστοκύστης κατά περίπου 50% (Wang et al., 2021).

lncRNA HOXA11-AS: Ρύθμιση της Μεταβολικής Δεκτικότητας

Το long non-coding RNA HOXA11-AS αποτελεί έναν νέο παίκτη στη ρύθμιση της φθαρτοποίησης. Ενώ τα επίπεδά του φυσιολογικά μειώνονται κατά το WOI υπό την επίδραση της προγεστερόνης, παραμένουν παθολογικά υψηλά σε ασθενείς με RIF (Zhao et al., 2022). Ο μηχανισμός δράσης

του HOXA11-AS είναι μετα-μεταγραφικός: λειτουργεί ως «μοριακός σπόγγος» για την πρωτεΐνη PTBP1 (Polypyrimidine Tract-Binding Protein 1). Η δέσμευση αυτή εμποδίζει την PTBP1 από το να ρυθμίσει την εναλλακτική μάτιση (alternative splicing) του pre-mRNA της κινάσης του πυροσταφυλικού (PKM). Ως αποτέλεσμα, παράγεται η ισομορφή PKM1 αντί της PKM2. Η έλλειψη της PKM2 διαταράσσει την αερόβια γλυκόλυση (φαινόμενο Warburg), στερώντας από το ενδομήτριο την απαραίτητη ενέργεια και τους μεταβολίτες για την υποστήριξη της εμφύτευσης (Zhao et al., 2022).

Ρόλος των Εξωσωμάτων στην Επικοινωνία Εμβρύου-Μητέρας

Η εμφύτευση βασίζεται σε έναν εξελιγμένο εξωσωματικό διάλογο, όπου τα εξωσώματα (30–150 nm) λειτουργούν ως προστατευμένα οχήματα μεταφοράς βιολογικών σημάτων.

- **Μητρικά Εξωσώματα & miR-30d:** Το ενδομήτριο εκκρίνει εξωσώματα πλούσια σε miR-30d στο ενδομητρικό υγρό (Vilella et al., 2015). Η είσοδος του miRNA στα κυστίδια ρυθμίζεται από την πρωτεΐνη hnRNPC1 (Balaguer et al., 2018). Τα εξωσώματα αυτά προσλαμβάνονται από το τροφοεκτόδερμα του εμβρύου, προκαλώντας την υπερέκφραση γονιδίων προσκόλλησης, όπως οι ιντεγκρίνες Itgb3 και Itga7, και η καντχερίνη Cdh5 (Vilella et al., 2015).
- **Κάθετη Μεταφορά mtDNA:** Μια σημαντική ανακάλυψη (2023) έδειξε ότι το ενδομήτριο εκκρίνει μικροκυστίδια (MVs) που μεταφέρουν μητρικό μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) στο έμβρυο κατά την προ-εμφυτευτική περίοδο (Bolumar et al., 2023). Αυτή η μεταφορά ενισχύει τον μεταβολισμό του εμβρύου και τη βιοενεργητική του ικανότητα, προετοιμάζοντάς το για την εισβολή στο στρώμα (Bolumar et al., 2023).
- **Εμβρυϊκά Εξωσώματα (miR-320a, miR-149):** Το έμβρυο δεν είναι παθητικός δέκτης. Τα υψηλής ποιότητας έμβρυα εκκρίνουν το miR-320a, το οποίο επάγει τη μετανάστευση των ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων προς το σημείο της εμφύτευσης (Berkhout et al., 2020). Αντίθετα, το έμβρυο εκκρίνει επίσης το miR-149, το οποίο ρυθμίζει τη φθαρτοποίηση μέσω της στόχευσης της πρωτεΐνης PARP-2, εξασφαλίζοντας τον έλεγχο της εισβολής του τροφοβλάστη (Esmaeilvand & Nasr-Esfahani, 2022).

5.4 Πρώιμη εγκυμοσύνη και πλακούντας

Η ανάπτυξη του πλακούντα κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης αποτελεί τη βάση για μια υγιή εγκυμοσύνη. Η διαδικασία αυτή βασίζεται στη διαφοροποίηση των τροφοβλαστών σε δύο κύριες σειρές: τη λάχνια τροφοβλάστη (villous trophoblast - VT), υπεύθυνη για την ανταλλαγή αερίων και θρεπτικών συστατικών, και την εξωλάχνια τροφοβλάστη (extravillous trophoblast - EVT), η οποία εισβάλλει στο ενδομήτριο για την αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών. Η σύγχρονη μοριακή έρευνα έχει αναδείξει ειδικά συμπλέγματα miRNAs που ελέγχουν αυτή τη μετάβαση και την απόκριση του πλακούντα στις μεταβαλλόμενες συνθήκες οξυγόνωσης.

Το Σύμπλεγμα C19MC: Ο Πλακουντιακός «Φύλακας»

Το σύμπλεγμα C19MC (Chromosome 19 MicroRNA Cluster) είναι το μεγαλύτερο σύμπλεγμα miRNA στον άνθρωπο και απαντάται αποκλειστικά στα πρωτεύοντα θηλαστικά (Mong et al., 2020). Περιλαμβάνει 46 γονίδια που κωδικοποιούν 58 ώριμα miRNAs και χαρακτηρίζεται από γονιδιωματική αποτύπωση (imprinting), καθώς εκφράζεται μόνο από το πατρικό αλληλόμορφο.

- Ρύθμιση της Τροφοβλαστικής Εισβολής: Τα miRNAs του C19MC εκφράζονται έντονα στις λάχινες τροφοβλάστες αλλά μειώνονται καθώς τα κύτταρα μετατρέπονται σε εισβολείς EVTs. Η υπερέκφρασή τους (π.χ. miR-517a/c) αναστέλλει την επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), διατηρώντας τα κύτταρα σε έναν μη-επεμβατικό, επιθηλιακό φαινότυπο (Mong et al., 2020). Η έκθεση σε υποξία μειώνει την έκφραση του C19MC, “ξεκλειδώνοντας” το μεταναστευτικό δυναμικό των τροφοβλαστών.
- Εξωσωματική Επικοινωνία: Τα miRNAs του C19MC συσκευάζονται σε εξωσώματα και απελευθερώνονται στη μητρική κυκλοφορία ήδη από την 6η εβδομάδα (Hromadnikova et al., 2017). Αυτά τα κυστίδια μεσολαβούν στον διάλογο μητέρας-εμβρύου και μπορούν να προσδώσουν αντική αντοχή μέσω της ενεργοποίησης της αυτοφαγίας.

miR-210: Ο Master Ρυθμιστής της Υποξίας (Hypoxamir)

Το miR-210 αποτελεί το βασικό μόριο προσαρμογής του πλακούντα στο υποξικό περιβάλλον του πρώτου τριμήνου.

- Μηχανισμός Επαγωγής: Η υποξία σταθεροποιεί τον παράγοντα HIF-1α, ο οποίος συνδέεται στον υποκινητή του miR-210 και επάγει τη μεταγραφή του (Anton et al., 2019).
- Μιτοχονδριακή Δυσλειτουργία: Το miR-210 στοχεύει άμεσα τα mRNA των πρωτεϊνών ISCU, NDUFA4 και SDHD, διαταράσσοντας τη μιτοχονδριακή αναπνοή. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και οξειδωτικό στρες, το οποίο βλάπτει την τροφοβλάστη και συμβάλλει στην πλακουντιακή ανεπάρκεια (Anton et al., 2019).
- Αγγειογενετική Ανισορροπία: Το miR-210 παρεμβαίνει στον «αγγειογενετικό διακόπτη» καταστέλλοντας προ-αγγειογενετικούς παράγοντες όπως το EFNA3 και προάγοντας την απελευθέρωση του sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1).

Σύνδεση με την Προεκλαμψία

Η απορρύθμιση αυτών των μονοπατιών αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της προεκλαμψίας (PE). Η παθολογική υπερέκφραση του miR-210 συνδέεται με τη «ρηχή» εισβολή των EVTs και την αποτυχία αναδιαμόρφωσης των σπειροειδών αρτηριών (Kondracka et al., 2022). Η προγνωστική αξία των miRNAs του C19MC είναι πλέον τεκμηριωμένη. Συγκεκριμένα μέλη (όπως τα miR-517-5p, miR-518b και miR-520h) στον ορό ή στα εξωσώματα μπορούν να προβλέψουν την εμφάνιση προεκλαμψίας ήδη από τις εβδομάδες 10–13 (Hromadnikova et al., 2017; Kondracka et al., 2022). Η ακρίβεια της πρόβλεψης είναι σημαντικά υψηλότερη όταν αναλύονται τα εξωσωματικά κλάσματα σε σύγκριση με το ολικό πλάσμα (Hromadnikova et al., 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ncRNAs στις Ενδοκρινικές Διαταραχές της Αναπαραγωγής

6.1 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)

Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS) αποτελεί την πλέον συχνή ενδοκρινική και μεταβολική διαταραχή σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, επηρεάζοντας το 8–13% του πληθυσμού παγκοσμίως (Teede et al., 2023). Παρά την ετερογένειά του, το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από έναν βασικό παθοφυσιολογικό πυρήνα που περιλαμβάνει την αναπαραγωγική δυσλειτουργία και τη μεταβολική απορρύθμιση.

6.1.1 Παθοφυσιολογία PCOS: Ο Τριαδικός Άξονας

Η παθογένεια του PCOS θεωρείται «φαινόμενο δύο πληγμάτων» (two-hit phenomenon). Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, μια υποκείμενη γενετική προδιάθεση (πρώτο πλήγμα) αλληλεπιδρά με περιβαλλοντικούς επιβαρυντικούς παράγοντες, όπως η παχυσαρκία και η ινσουλινοαντίσταση (δεύτερο πλήγμα), οδηγώντας στην πλήρη κλινική εκδήλωση του συνδρόμου (Chen et al., 2025).

1. Υπερανδρογοναιμία και Λειτουργικός Υπερανδρογονισμός των Ωοθηκών (FOH) Η υπερανδρογοναιμία (HA) αποτελεί το σήμα κατατεθέν του συνδρόμου και εντοπίζεται στο 65–95% των περιπτώσεων (Rosenfield & Ehrmann, 2016).
 - Μοριακός Μηχανισμός: Η κύρια πηγή των ανδρογόνων είναι τα θήκα κύτταρα των ωοθηκών, τα οποία εμφανίζουν ενδογενή υπερλειτουργία και υπερέκφραση των στεροειδογόνων ενζύμων, ιδιαίτερα του P450c17 (CYP17A1) (Rosenfield & Ehrmann, 2016).
 - Συνέργεια LH και Ινσουλίνης: Η ινσουλίνη δρα συνεργιστικά με την LH, ενισχύοντας την παραγωγή ανδρογόνων μέσω του άξονα PI3K/AKT. Παράλληλα, η υπερινσουλιναίμία καταστέλλει την παραγωγή της SHBG στο ήπαρ, αυξάνοντας τη βιοδιαθέσιμη τεστοστερόνη (Chen et al., 2025).
2. Ινσουλινοαντίσταση και ο Φαύλος Κύκλος (Vicious Cycle) Η ινσουλινοαντίσταση (IR) είναι παρούσα στο 75–95% των γυναικών με PCOS, ανεξάρτητα από τον BMI (Dunaif, 1997; Witchel et al., 2019).
 - Επιλεκτική Αντίσταση: Ενώ η μεταβολική σηματοδότηση της ινσουλίνης (GLUT4) στον λιπώδη ιστό και τους μυς είναι ελαττωματική, οι στεροειδογόνες οδοί στις ωοθήκες παραμένουν υπερευαίσθητες στην ινσουλίνη (Dunaif, 1997).
 - Αμφίδρομη Σχέση: Η IR και η υπερανδρογοναιμία τροφοδοτούν έναν φαύλο κύκλο. Τα υψηλά επίπεδα ινσουλίνης διεγείρουν την παραγωγή ανδρογόνων, ενώ τα πλεονάζοντα

ανδρογόνα προάγουν τη συσσώρευση σπλαχνικού λίπους και την περαιτέρω επιδείνωση της IR (Witchel et al., 2019).

3. Διαταραχή Ωορρηξίας και Ωοθυλακική Ανακοπή Η ανωορρηξία στο PCOS οφείλεται στην παθολογική ανακοπή της ανάπτυξης των ωοθυλακίων στο στάδιο του πρώιμου άντρου (Witchel et al., 2019).
 - GnRH και LH/FSH: Παρατηρείται αυξημένη συχνότητα ώσεων της GnRH, η οποία επάγει την προτιμησιακή έκκριση LH έναντι της FSH. Η σχετική έλλειψη FSH εμποδίζει την ενεργοποίηση της αρωματάσης (CYP19A1) στα κοκκιώδη κύτταρα, εμποδίζοντας τη μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα (Rosenfield & Ehrmann, 2016).
 - Ρόλος της AMH: Τα επίπεδα της Αντι-μυλλέριαν Ορμόνης (AMH) είναι σταθερά αυξημένα στο PCOS, αντανakλώντας τον μεγάλο αριθμό προ-άντρινων ωοθυλακίων. Η AMH αναστέλλει τη δράση της FSH και την επιλογή κυρίαρχου ωοθυλακίου, ενώ συμμετέχει σε έναν θετικό βρόχο ανατροφοδότησης (AMH-LH feedback) που επιτείνει τη νευροενδοκρινική δυσλειτουργία (Chen et al., 2025).

Αυτός ο τριπλός άξονας (LH-Υπερινσουλιναίμια-Υπερανδρογοναιμία) δημιουργεί το παθοφυσιολογικό υπόβαθρο πάνω στο οποίο δρουν τα ncRNAs ως επιγενετικοί ρυθμιστές.

6.1.2 Τα MicroRNAs στην Παθογένεια του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)

Η αιτιολογία του PCOS δεν εξηγείται πλήρως από τις γενετικές παραλλαγές που ταυτοποιήθηκαν μέσω Μελετών Συσχέτισης Ολόκληρου του Γονιδιώματος (GWAS). Κατά συνέπεια, το επιστημονικό παράδειγμα έχει μετατοπιστεί προς τον ρόλο των επιγενετικών ρυθμιστών, με ιδιαίτερη έμφαση στα microRNAs (miRNAs). Η ανάλυση του μεταγραφώματος σε πολλαπλά βιολογικά διαμερίσματα (ορός, ωοθυλακικό υγρό, κοκκιώδη κύτταρα, λιπώδης ιστός) αποκαλύπτει μια σαφώς ανώμαλη υπογραφή miRNAs στις ασθενείς με PCOS, η οποία δεν αντανakλά απλώς την παθολογική κατάσταση αλλά κατευθύνει ενεργά τα συνδρομικά χαρακτηριστικά.

miR-93: Ινσουλινοαντίσταση και Ωοθυλακική Αναστολή

Η ινσουλινοαντίσταση (IR) αποτελεί πανταχού παρόν χαρακτηριστικό του PCOS, επηρεάζοντας το 70–80% των ασθενών ανεξαρτήτως ΔΜΣ. Το miR-93 αναδείχθηκε ως βασικός μηχανισμός αυτής της μεταβολικής διαταραχής. Στον λιπώδη ιστό, το miR-93 υπερεκφράζεται και στοχεύει άμεσα την 3' UTR του mRNA του μεταφορέα γλυκόζης GLUT4 (SLC2A4), οδηγώντας σε μείωση της πρόσληψης γλυκόζης και αντισταθμιστική υπερινσουλιναίμια (Chen et al., 2013).

Εντός της ωοθήκης, η υπερινσουλιναίμια πυροδοτεί περαιτέρω αύξηση του miR-93 στα κοκκιώδη κύτταρα. Εκεί, το miR-93 στοχεύει το CDKN1A (p21), καταργώντας τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 και προωθώντας τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, χαρακτηριστικό της πολυκυστικής μορφολογίας (Jiang et al., 2015). Αναδεικνύεται έτσι ένας αυτοτροφοδοτούμενος φαύλος κύκλος: η περιφερική καταστολή του GLUT4 προκαλεί υπερινσουλιναίμια, η οποία ρυθμίζει ανοδικά το ωοθηκικό miR-93, το οποίο με τη σειρά του οδηγεί σε ωοθυλακική αναστολή.

miR-21: Αντι-αποπτωτικός Ρυθμιστής και Φλεγμονή

Η πολυκυστική ωοθήκη χαρακτηρίζεται από πολλαπλά μικρά ωοθυλάκια που ανθίστανται παθολογικά στην ατρησία. Το miR-21 αποτελεί βασικό μεσολαβητή αυτής της αντίστασης στην απόπτωση. Η έκφρασή του είναι σημαντικά αυξημένη στον ορό, στο ωοθυλακικό υγρό και στα κοκκιώδη κύτταρα ασθενών με PCOS (Jiang et al., 2015).

Ο κύριος μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει τη στόχευση και καταστολή του προ-αποπτωτικού γονιδίου PDCD4 (Programmed Cell Death 4), καταργώντας τη δραστηριότητα της κασπάσης-3 και εμποδίζοντας τη φυσιολογική ωοθυλακική ατρησία. Παράλληλα, το miR-21 καταστέλλει την κινάση LATS1 του μονοπατιού Hippo, δημιουργώντας ένα πολυεπίπεδο περιβάλλον υπέρ της κυτταρικής επιβίωσης (Jiang et al., 2015).

Πέραν της αντι-απόπτωσης, πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν μια αμφίδρομη διασταύρωση μεταξύ του miR-21 και της έμφυτης ανοσίας. Το miR-21 ενισχύει τη μετάφραση του υποδοχέα TLR8 στα κοκκιώδη κύτταρα, οδηγώντας σε ενδοωοθυλακική υπερέκκριση των IFN-γ, TNF-α και

IL-12 (Yu et al., 2021). Αυτή η χρόνια ενδοωοθυλακική φλεγμονή βλάπτει περαιτέρω την ικανότητα του ωαρίου.

miR-483-5p: Ρύθμιση της Στεροειδογένεσης

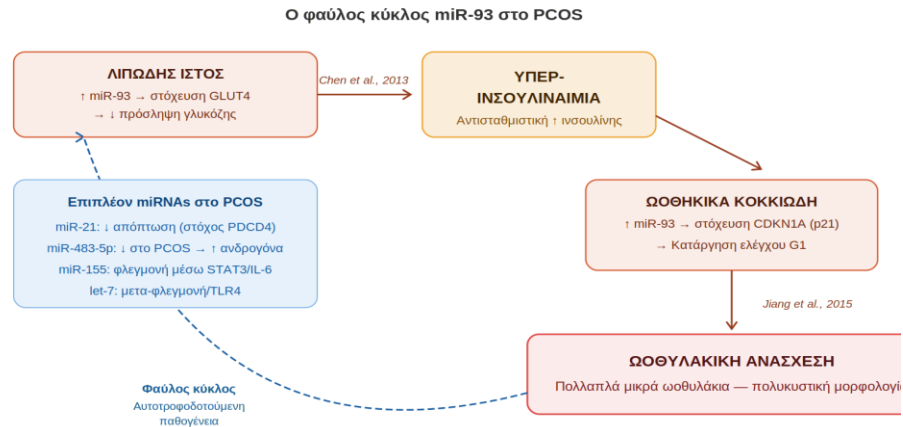
Σε αντίθεση με τα προηγούμενα miRNAs, η έκφραση του miR-483-5p είναι δραστικά μειωμένη στα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου και τον ωθητικό φλοιό ασθενών με PCOS (Shi et al., 2015). Η μείωση αυτή αίρει την επιγενετική καταστολή βασικών στόχων, ιδίως του IGF-1, ο οποίος δρα συνεργιστικά με την LH για τη ρύθμιση ανοδικά των στεροειδογόνων ενζύμων StAR και CYP17A1, οδηγώντας σε υπερπαραγωγή ανδρογόνων (Shi et al., 2015).

Επιπλέον, η απώλεια του miR-483-5p επιτρέπει την υπερέκφραση του Notch3 και του MAPK3, διαταράσσοντας την επικοινωνία ωαρίου-σωματικών κυττάρων και υπονομεύοντας την αναπτυξιακή ικανότητα του ωαρίου (Xu et al., 2015). Αξιοσημείωτα, κλινικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι η θεραπεία με Μετφορμίνη ρυθμίζει ανοδικά την έκφραση του miR-483-5p, υποδηλώνοντας ότι η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου διαμεσολαβείται εν μέρει μέσω αποκατάστασης του φυσιολογικού προφίλ ncRNAs.

miR-155 και Οικογένεια let-7: Φλεγμονή και Μετα-φλεγμονή

Η χρόνια, χαμηλού βαθμού φλεγμονή (μετα-φλεγμονή) αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό του PCOS. Το miR-155 υπερεκφράζεται τόσο συστηματικά όσο και στα ωθητικά κοκκιώδη κύτταρα, με πυροδοτικό μηχανισμό την άμεση έκθεση σε ανδρογόνα (DHT) (Cirillo et al., 2019). Η δράση του περιλαμβάνει καταστολή του PDCD4, υπερενεργοποίηση του STAT3 και αύξηση της IL-6, καθώς και αντίστροφη συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις HMGB1 στο ωοθυλακικό υγρό (Cirillo et al., 2019).

Η οικογένεια let-7 εμπλέκεται στον χρονισμό ενεργοποίησης των αρχέγονων ωοθυλακίων και στη συστηματική φλεγμονή μέσω αλληλεπίδρασης με τα δίκτυα TLR4. Κομβική πιλοτική μελέτη σε μη-παχύσαρκες γυναίκες με PCOS χωρίς ινσουλινοαντίσταση ανέδειξε το let-7b-3p ως ένα από τα ελάχιστα σημαντικά απορρυθμισμένα miRNAs, συσχετιζόμενο θετικά με τα επίπεδα TNF, IL-6 και AMH, τεκμηριώνοντας τον θεμελιώδη φλεγμονώδη ρόλο του ανεξάρτητα από την παχυσαρκία (Butler et al., 2020).



Σχηματική αναπαράσταση βασισμένη σε Chen et al. (2013) και Jiang et al. (2015)

Εικόνα 3: Ο φαύλος κύκλος του miR-93 στο PCOS. Η υπερέκφραση του miR-93 στον λιπώδη ιστό καταστέλλει τον GLUT4, προκαλώντας υπερινσουλιναίμια, η οποία ρυθμίζει ανοδικά το ωοθηκικό miR-93 → στόχευση CDKN1A → ωοθυλακική ανασχέση (Chen et al., 2013; Jiang et al., 2015)

Διαγνωστικές Προεκτάσεις

Η σταθερότητα των κυκλοφορούντων miRNAs (εντός εξωσωμάτων ή συνδεδεμένων με Argonaute-2) τα καθιστά ιδανικούς υποψηφίους για «υγρές βιοψίες». Ένα στοχευμένο πάνελ κυκλοφορούντων miRNAs —ενσωματώνοντας τον μεταβολικό δείκτη miR-93, τον δείκτη κυτταρικής επιβίωσης miR-21, τον ρυθμιστή στεροειδογένεσης miR-483-5p, και τους φλεγμονώδεις μεσολαβητές miR-155 και let-7— θα μπορούσε να παράσχει ένα μοριακό «δακτυλικό αποτύπωμα» του φαινότυπου PCOS της κάθε ασθενούς, επιτρέποντας εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση και πρόβλεψη αποτελεσμάτων IVF (Sathiyapalan et al., 2015).

6.1.3 Τα lncRNAs στο PCOS: Επιγενετική Ρύθμιση Ανδρογόνων και LINC00473

Η πολυπλοκότητα του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών δεν μπορεί να εξηγηθεί αποκλειστικά μέσω των βραχέων, κατασταλτικών μηχανισμών των microRNAs. Τα μακρά μη κωδικοποιούντα RNA (long non-coding RNAs - lncRNAs), μεταγράφημα μεγαλύτερα από 200 νουκλεοτίδια, διευρύνουν περαιτέρω αυτό το επιγενετικό τοπίο. Σε αντίθεση με τα miRNAs, τα lncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν μέσω πολλαπλών και πολλαπλών μηχανισμών: λειτουργούν ως

δομικά ικρίωματα (scaffolds) για τη συγκρότηση πρωτεϊνικών συμπλόκων, ως ρυθμιστές της αρχιτεκτονικής της χρωματίνης, ή ως «μοριακοί σπόγγοι» (ceRNAs - competing endogenous RNAs) απορροφώντας και αδρανοποιώντας συγκεκριμένα miRNAs. Η λειτουργική αυτή πλαστικότητα τους επιτρέπει να επηρεάζουν καθοριστικά τη στεροειδογένεση, τη λειτουργία των κοκκιωδών κυττάρων και τη δεκτικότητα του ενδομητρίου. Πρόσφατες αναλύσεις έχουν εντοπίσει πολυάριθμα lncRNAs που ρυθμίζονται ανώμαλα στον ορό, το ωοθυλακικό υγρό και τα ωοθηκικά κύτταρα γυναικών με PCOS, με ορισμένα από αυτά να συνδέονται άμεσα με τον βασικότερο παθοφυσιολογικό άξονα του συνδρόμου: την υπερανδρογοναιμία.

Επιγενετική Ρύθμιση Ανδρογόνων: Ο Ρόλος των CTBP1-AS και HUPCOS

Ο φαινότυπος του PCOS βασίζεται πρωτίστως στη σημαντική διαταραχή του μεταβολισμού των ανδρογόνων. Η επιγενετική ρύθμιση αυτού του μεταβολικού άξονα περιλαμβάνει κρίσιμα lncRNAs που μπορούν να μεταβάλουν είτε την ίδια τη βιοσύνθεση των ανδρογόνων, είτε την τοπική ευαισθησία των ιστών σε αυτά τα στεροειδή. Δύο από τα πιο σημαντικά αναδυόμενα lncRNAs προς αυτή την κατεύθυνση είναι το CTBP1-AS και το HUPCOS.

Το lncRNA CTBP1-AS (C-Terminal Binding Protein 1 Antisense) αποτελεί έναν ισχυρό, επιγενετικό ρυθμιστή (coregulator) του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR). Εντοπίζεται στην περιοχή antisense του γονιδίου CTBP1 και αρχικά μελετήθηκε εκτενώς για τον ρόλο του στην ανάπτυξη ορμονοεξαρτώμενων νεοπλασιών. Στο περιβάλλον του PCOS, το CTBP1-AS βρέθηκε να υπερεκφράζεται σε αυξημένα επίπεδα (Liu et al., 2015). Αυτή η υπερέκφραση σχετίζεται άμεσα και θετικά με τη συγκέντρωση της ολικής τεστοστερόνης στην κυκλοφορία του αίματος των ασθενών, καθιστώντας το όχι μόνο βασικό συστατικό της παθογένειας, αλλά και έναν ανεξάρτητο προγνωστικό βιοδείκτη για τον βαθμό της υπερανδρογοναιμίας στο PCOS (Liu et al., 2015). Επιδρώντας στον υποδοχέα AR, το CTBP1-AS ουσιαστικά ενισχύει την επιγενετική ανταπόκριση των κυττάρων στα κυκλοφορούντα ανδρογόνα, δημιουργώντας έναν ενδοκυτταρικό βρόχο υπερ-ευαισθητοποίησης ακόμα και χωρίς περαιτέρω αύξηση της ίδιας της ορμόνης.

Αν το CTBP1-AS ελέγχει την ευαισθησία των υποδοχέων, το lncRNA HUPCOS (lncRNA-ZSCAN2-5:15) ελέγχει την ίδια τη χημική βιοσύνθεση των στεροειδών μέσα στο ωοθυλάκιο. Το HUPCOS αναγνωρίστηκε πρόσφατα ως ένα από τα πιο έντονα ανοδικά ρυθμιζόμενα (up-regulated) μη κωδικοποιούντα RNA μέσα στα κοκκιώδη κύτταρα ασθενών με PCOS (Che et al., 2020). Η παθολογική αυτή υπερέκφραση σχετίζεται άμεσα με τη συσσώρευση υψηλών επιπέδων ανδρογόνων μέσα στο ωοθυλακικό υγρό, οδηγώντας σε πρόωρη αναστολή της ωοθυλακικής ανάπτυξης. Μηχανιστικά, το HUPCOS εμποδίζει την παραγωγή της αρωματάσης (CYP19A1)—του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα (οιστραδιόλη). Συγκεκριμένα, το HUPCOS διευκολύνει την πρωτεϊνική αποδόμηση (σωματική καταστροφή) της πρωτεΐνης RBPM5, γεγονός που στη συνέχεια καταστέλλει τον μεταγραφικό παράγοντα SMAD4, προκαλώντας την πλήρη σίγηση του γονιδίου της αρωματάσης (Che et al., 2020). Αυτός ο μηχανισμός αποδεικνύει ότι τα lncRNAs στο PCOS λειτουργούν ως ενεργοί ρυθμιστές που μπλοκάρουν το μονοπάτι της παραγωγής οιστρογόνων, εγκλωβίζοντας το ωοθυλάκιο σε ένα υπερανδρογονικό περιβάλλον.

Ο Ρόλος του LINC00473: Πέραν των Ωοθηκών

Αν και μεγάλο μέρος της έρευνας για το PCOS επικεντρώνεται φυσιολογικά στην παθολογία των ωοθηκών, οι αναπαραγωγικές συνέπειες του συνδρόμου συχνά επεκτείνονται και στη δεκτικότητα του ενδομητρίου, προκαλώντας υψηλά ποσοστά αποβολών ή αποτυχιών εμφύτευσης. Εδώ, το επιγενετικό τοπίο ρυθμίζεται από την πολύπλοκη δράση μορίων όπως το LINC00473.

Το LINC00473 είναι ένα αποκλειστικά εξειδικευμένο στα πρωτεύοντα θηλαστικά lncRNA, το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των ιστών, συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού θερμογόνων λιποκυττάρων. Στο πλαίσιο της γυναικείας αναπαραγωγής, το LINC00473 εκφράζεται σημαντικά και ειδικά στα στρωματικά κύτταρα του ανθρώπινου ενδομητρίου (hESCs) κατά τη διαδικασία της φθαρτοποίησης (decidualization), μιας διαδικασίας απαραίτητης για την επιτυχή εμφύτευση του εμβρύου και τη διατήρηση της εγκυμοσύνης (Liang et al., 2016). Η έκφραση του LINC00473 εξαρτάται άμεσα

από τα μονοπάτια σηματοδότησης του κυκλικού AMP (cAMP) (Liang et al., 2016). Στις γυναίκες με PCOS, συχνά παρατηρείται σημαντική διαταραχή σε αυτή τη διαδικασία της φθαρτοποίησης, η οποία οφείλεται εν μέρει στα μη φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων, στις μεταβολικές ανωμαλίες και στην παθολογική έκφραση των ncRNAs στο ενδομήτριο μικροπεριβάλλον. Παρεμβάσεις ή αλλοιώσεις στην έκφραση του LINC00473 υπονομεύουν την ικανότητα του ενδομητρίου να ανταποκριθεί σωστά στις ορμονικές απαιτήσεις για τον σχηματισμό υγιούς στρώματος δεκτικότητας, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα lncRNAs στο PCOS μπορεί να δημιουργούν επιγενετικά εμπόδια που εκτείνονται σε ολόκληρο τον αναπαραγωγικό άξονα.

6.1.4 Τα circRNAs στο PCOS: Προφίλ Έκφρασης και ο Ρόλος τους ως ceRNAs

Τα κυκλικά RNA (circular RNAs - circRNAs) αποτελούν μια μοναδική, άκρως σταθερή κατηγορία μη κωδικοποιούντων RNA. Σε αντίθεση με τα γραμμικά RNA, τα circRNAs σχηματίζουν κλειστούς ομοιοπολικούς βρόχους μέσω μιας διαδικασίας αντίστροφης ωρίμανσης (back-splicing), γεγονός που τα καθιστά ανθεκτικά στην αποδόμηση από εξωνουκλεάσες. Εκτεταμένες μεταγραφωματικές αναλύσεις με χρήση μικροσυστοιχιών (microarrays) στα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου (cumulus cells) ασθενών με PCOS αποκάλυψαν εκατοντάδες circRNAs τα οποία εμφανίζουν ανώμαλη έκφραση. Για παράδειγμα, έρευνες εντόπισαν 311 αυξημένα και 721 μειωμένα circRNAs στα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου, υποδηλώνοντας τον βαθύ ρυθμιστικό τους ρόλο στην ωοθυλακιογένεση, στη στεροειδογένεση αλλά και στην ευρύτερη μεταβολική δυσλειτουργία του συνδρόμου (Che et al., 2019).

Ο συνηθέστερος και πλέον επιβεβαιωμένος μηχανισμός δράσης αυτών των μορίων στο PCOS είναι η λειτουργία τους ως ανταγωνιστικά ενδογενή RNAs (ceRNAs) ή «μοριακοί σπόγγοι» (miRNA sponges). Μέσω πολλαπλών θέσεων πρόσδεσης, “απορροφούν” και αδρανοποιούν συγκεκριμένα miRNAs, αναστέλλοντας έτσι την ικανότητα των τελευταίων να καταστέλλουν τα mRNA γονίδια-στόχους τους.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το circ_RANBP9, το οποίο εντοπίζεται σε σημαντικά αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα και στα κοκκιώδη κύτταρα των γυναικών με PCOS. Το circ_RANBP9 λειτουργεί ως «σπόγγος» απορροφώντας το miR-136-5p, αποτρέποντας την

ικανότητα του τελευταίου να καταστείλει το γονίδιο XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) (Lu et al., 2021). Η παθολογική υπερέκφραση του XIAP που προκύπτει, προάγει τον ανώμαλο πολλαπλασιασμό των κοκκιωδών κυττάρων και αναστέλλει δραστικά την απόπτωσή τους, επιδεινώνοντας την ωοθυλακική αναστολή που χαρακτηρίζει το σύνδρομο (Lu et al., 2021). Η πειραματική σίγηση του *circ_RANBP9* έχει αποδειχθεί ότι αντιστρέφει αυτές τις επιπτώσεις, προσφέροντας έναν ισχυρό θεραπευτικό στόχο.

Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το *circPUM1* (αναγνωρισμένο και ως *circ_0000043*), το οποίο παρομοίως υπερεκφράζεται στο PCOS και προάγει την εξέλιξη της νόσου μέσω της απορρόφησης του *miR-760* (Deng et al., 2020). Η διαρκής ανακάλυψη τέτοιων αξόνων (όπως ο άξονας *circ_RANBP9/miR-136-5p/XIAP* ή ο *circPUM1/miR-760*) αποδεικνύει ότι τα *circRNAs* αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστικούς κόμβους και πιθανούς θεραπευτικούς στόχους, προσθέτοντας ένα ακόμη επίπεδο πολυπλοκότητας στο επιγενετικό τοπίο του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών, τόσο σε ό,τι αφορά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και την αντίσταση στην απόπτωση των ωοθυλακίων.

6.2 Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI)

Η Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (Premature Ovarian Insufficiency - POI) αποτελεί ένα σύνθετο κλινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από την απώλεια της ωοθηκικής λειτουργίας πριν από την ηλικία των 40 ετών. Η διάγνωση βασίζεται στην παρουσία oligo/αμηνόρροιας για τουλάχιστον τέσσερις μήνες, σε συνδυασμό με αυξημένα επίπεδα ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης ($FSH > 25$ IU/L) σε δύο μετρήσεις και χαμηλά επίπεδα οιστραδιόλης ($E2$). Η παγκόσμια επίπτωση της νόσου εκτιμάται πλέον στο 3,5–3,7%, υποδεικνύοντας ότι η POI είναι συχνότερη από ό,τι υποστήριζαν παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες.

6.2.1 Γενετική Αρχιτεκτονική και η Αναθεώρηση του Γονιδίου FMR1

Οι γενετικοί παράγοντες ευθύνονται για το 20–25% των περιπτώσεων POI.

- Γονίδιο FMR1: Η επέκταση της επανάληψης CGG στην 5' αμετάφραστη περιοχή (UTR) του γονιδίου FMR1 αποτελεί τη συχνότερη μονογονιδιακή αιτία. Πρόσφατη ανάλυση μεγάλης κλίμακας από την UK Biobank σε δείγμα άνω των 92.000 γυναικών ανατρέπει το παραδοσιακό όριο των 55 επαναλήψεων, καταδεικνύοντας ότι ο κίνδυνος POI αυξάνεται συνεχώς ήδη από τις 36 επαναλήψεις (Morbey et al., 2026). Ο μηχανισμός αποδίδεται σε τοξική “αύξηση λειτουργίας” (gain-of-function) του mRNA, ενώ το γονίδιο RAD52 αναγνωρίστηκε ως σημαντικός γενετικός τροποποιητής (Morbey et al., 2026).
- Σύνδρομο Turner (45,X): Αποτελεί την κύρια χρωμοσωμική αιτία. Η υπορρύθμιση του lncRNA XIST στις ασθενείς αυτές υποδεικνύει δυσλειτουργίες στην αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X, ενώ τα microRNAs miR-486-5p και miR-320a σχετίζονται άμεσα με την ελαττωματική ωοθηκική ανάπτυξη (Oliveira et al., 2025).
- Μεταγραφικοί Παράγοντες: Μεταλλάξεις στα γονίδια NOBOX (επιπολασμός 1,2–9%) και FIGLA (1–4%) διαταράσσουν τη μετάβαση από τα αρχέγονα στα πρωτογενή ωοθυλάκια. Σε βοοειδή εμβρυολογικά μοντέλα, έχει δειχθεί ότι το miR-196a στοχεύει το NOBOX και το miR-212 ρυθμίζει το FIGLA, μηχανισμοί που θεωρείται ότι επηρεάζουν αναλογικά την πρόωμη ανθρώπινη ωοθυλακιογένεση.

6.2.2 Αυτοάνοση και Φλεγμονώδης Παθοφυσιολογία

Η αυτοανοσία ευθύνεται για το 4–30% των περιπτώσεων.

- Μοριακός Άξονας: Η ενεργοποίηση του μονοπατιού TLR4/NF-κΒ οδηγεί σε υπερπαραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (IL-6, TNF-α), οι οποίες επάγουν την απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων (GCs).
- miR-146a και miR-10a: Στο πλάσμα ασθενών με POI, το miR-146a εμφανίζεται σημαντικά μειωμένο (Theodoro et al., 2025). Ωστόσο, exosomal miR-146a και miR-10a από μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs) έχουν δείξει προστατευτική δράση σε πειραματικά μοντέλα, καταστέλλοντας τα γονίδια IRAK1, TRAF6 και Bim και μειώνοντας τη φλεγμονώδη ατρησία.

6.2.3 Ιατρογενείς Παράγοντες και Χημειοτοξικότητα

Η χημειοθεραπεία με αλκυλιούντες παράγοντες, όπως η κυκλοφωσφαμίδη (CTX), προκαλεί POI μέσω του φαινομένου “burn-out” και άμεσης βλάβης του DNA.

- miR-144-5p: Το exosomal miR-144-5p δρα ως βασικός ρυθμιστής επιδιόρθωσης, στοχεύοντας το γονίδιο PTEN και ενεργοποιώντας το μονοπάτι επιβίωσης PI3K/AKT στα κοκκιώδη κύτταρα.
- miR-122-5p: Αντίθετα, σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, τα επίπεδα του miR-122-5p αυξάνονται μετά τη χορήγηση CTX, προάγοντας την απόπτωση μέσω στόχευσης του BCL9.

6.2.4 Το Ρυθμιστικό Δίκτυο των ncRNAs στα Κοκκιώδη Κύτταρα

Η απορρύθμιση της επικοινωνίας μεταξύ ωοκυττάρου και κοκκιωδών κυττάρων (GCs) είναι καθοριστική:

- miR-23a: Υπερεκφράζεται στο πλάσμα ασθενών με POI (Theodoro et al., 2025), στοχεύοντας τις αντι-αποπτωτικές πρωτεΐνες XIAP και SMAD5, οδηγώντας σε αυξημένη απόπτωση των GCs (Nie et al., 2015).
- lncRNA BBOX1-AS1 και DLEU1: Δρουν ως “σπόγγοι” (sponges) για το miR-146b και miR-146b-5p αντίστοιχα, ακυρώνοντας την κατασταλτική τους δράση στην απόπτωση και ενισχύοντας την ωοθυλακική ατρησία (Yu et al., 2022).
- hsa_circ_0005379: Πρόκειται για έναν νέο βιοδείκτη που εντοπίζεται αυξημένος στα εξωσώματα του ωοθυλακικού υγρού ασθενών με μειωμένο ωοθηκικό απόθεμα (DOR) και ρυθμίζει το οξειδωτικό στρες στα GCs (Huang et al., 2025).

6.3 Εξειδικευμένα miRNAs στην Παθοφυσιολογία της POI

Η αναζήτηση πρώιμων βιοδεικτών για την POI έχει αναδείξει συγκεκριμένα miRNAs ως βασικούς ρυθμιστές της λειτουργίας και της επιβίωσης των κοκκιωδών κυττάρων (GCs).

miR-22-3p: Ρύθμιση της Γήρανσης και της Χημειοτοξικότητας

Το miR-22-3p αποτελεί βασικό προστάτη της ωοθήκης, με σημαντικά μειωμένη έκφραση κατά την ωοθυλακική ατρησία και μετά από χημειοθεραπεία. Στοχεύει τη SIRT1, τον CMKLR1 (Pan, 2023) και το μονοπάτι KLF6/ATF4-ATF3-CHOP, ενώ η μείωσή του οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ROS και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στα GCs. Πρόσφατα, εξωσωματικό miR-22-3p αποδείχθηκε ότι αναστέλλει την απόπτωση μέσω του KLF6, προσφέροντας προστασία έναντι της χημειοτοξικότητας.

miR-146a: Αυτοάνοση POI και Ανοσορρύθμιση

Το miR-146a λειτουργεί ως «φρένο» στην ανοσολογική ενεργοποίηση, καταστέλλοντας το μονοπάτι TLR4/NF-κB και μειώνοντας τα επίπεδα TNF-α και IL-6 (He et al., 2022). Στις ασθενείς με POI, τα επίπεδά του στο αίμα είναι σημαντικά μειωμένα, παρουσιάζοντας αντίστροφη συσχέτιση με την FSH (Theodoro et al., 2025).

miR-184 και miR-27a: Ρυθμιστές Απόπτωσης μέσω TGF-β

Το miR-184 δρα προστατευτικά αυξάνοντας την έκφραση του SMAD3 (Shan et al., 2024), ενώ αντίθετα το miR-27a —αυξημένο στην POI— προάγει την απόπτωση μέσω στόχευσης του SMAD5 και ενεργοποίησης του συστήματος FasL-Fas (Nie et al., 2015). Το lncRNA TRERNA1 λειτουργεί ως «σπόγγος» για το miR-23a, εμποδίζοντας την αποπτωτική του δράση (Zhang et al., 2022).

Θεραπευτικές Προοπτικές

Η χρήση εξωσωμάτων από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSC-Exos) για τη μεταφορά miRNAs (miR-21, miR-22-3p, miR-146a) αποτελεί υποσχόμενη αναγεννητική προσέγγιση, βελτιώνοντας την ωοθηκική αιμάτωση και το ορμονικό προφίλ (AMH, E2). Παράλληλα, τα κυκλοφορούντα miRNAs προσφέρουν δυνατότητα μη επεμβατικής διάγνωσης της πτωχής ωοθηκικής απάντησης (POR) σε πρώιμα στάδια.

6.4 lncRNAs και circRNAs στην Παθογένεια της POI

Η απορρύθμιση των μη-κωδικοποιητικών RNA (ncRNAs) στα κοκκιώδη κύτταρα (GCs) αποτελεί βασικό μοχλό της παθογένειας της POI, προσφέροντας παράλληλα νέες δυνατότητες για τη χρήση τους ως διαγνωστικούς βιοδείκτες.

- lncRNA NEAT1: Επιγενετική Ρύθμιση και Σύνθεση Οιστραδιόλης

Το lncRNA NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1) αποτελεί σημαντικό επιγενετικό ρυθμιστή που συνδέει τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες με τη λειτουργία των GCs. Σε περιπτώσεις μειωμένου ωοθηκικού αποθέματος (DOR), τα επίπεδα του NEAT1 είναι σημαντικά μειωμένα, γεγονός που συσχετίζεται με χαμηλά επίπεδα AMH και αυξημένη απόπτωση (Dong et al., 2025). Μηχανιστικά, το NEAT1 δρα ως «σπόγγος» για το miR-204-5p, απελευθερώνοντας την έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων 1 (ESR1), ο οποίος ενεργοποιεί το μονοπάτι MAPK, προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη σύνθεση οιστραδιόλης (E_2) (Dong et al., 2025).

- lncRNA GCAT1: Ρύθμιση της Μετάφρασης της p27

Το lncRNA GCAT1 (Granulosa Cell-Associated Transcript 1), γνωστό και ως LINC02690, συμμετέχει στην παθογένεια της POI ρυθμίζοντας τη μετάφραση της πρωτεΐνης p27. Το GCAT1 προσδένεται ανταγωνιστικά στην πρωτεΐνη PTBP1 (Polypyrimidine Tract Binding Protein 1) (Li et al., 2020). Η δράση αυτή είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του πολλαπλασιαστικού δυναμικού των GCs, ενώ η υποέκφρασή του στην POI οδηγεί σε διαταραχή του κυτταρικού κύκλου και εξάντληση του ωοθυλακικού αποθέματος (Li et al., 2020).

- circRNA hsa_circ_0002021: Προστασία από τη Γήρανση

Το κυκλικό RNA hsa_circ_0002021 έχει αναγνωριστεί ως βασικός παράγοντας στην καταπολέμηση της γήρανσης των κοκκιωδών κυττάρων. Η μεταφορά του μέσω εξωσωμάτων προερχόμενων από μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα του ομφάλιου λώρου (HUMSCs-Exo) αναστέλλει το miR-125a-5p, οδηγώντας σε αύξηση της κινάσης CDK6 (Yang et al., 2024). Η

αποκατάσταση των επιπέδων της CDK6 είναι μεγάλης σημασίας για την προώθηση του κυτταρικού κύκλου και την αποτροπή της κυτταρικής γήρανσης (Yang et al., 2024).

- lncRNA HCP5: Διαφορετικοί Ρόλοι σε PCOS και POI

Το HCP5 εμφανίζει διττή δράση στον ωθηκικό ιστό. Στα κύτταρα KGN, η υπερέκφραση του HCP5 προάγει τον πολλαπλασιασμό και αναστέλλει την απόπτωση μέσω του άξονα miR-27a-3p/IGF-1 (Chen et al., 2020). Αντίθετα, στην POI, η υποέκφραση του HCP5 διαταράσσει τη διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA (DDR) μέσω της αλληλεπίδρασης με την πρωτεΐνη YB1 και το γονίδιο MSH5.

- circRNAs ως Μεταβολικοί Βιοδείκτες στον Ορό

Οι βιοδείκτες hsa_circRNA_008901 και hsa_circRNA_403959 βρέθηκαν σημαντικά μειωμένοι στον ορό ασθενών με POI (Wang et al., 2023). Αυτά τα μόρια παρουσιάζουν υψηλή διαγνωστική ακρίβεια και φαίνεται να ρυθμίζουν μεταβολικά μονοπάτια μέσω των miR-548c-3p και miR-1207-5p, καθιστώντας τα ιδανικούς υποψήφιους για ελάχιστα επεμβατική διάγνωση (liquid biopsy) (Wang et al., 2023).

6.5 Ανδρικός Υπογοναδισμός και Ανδρική Υπογονιμότητα

Η ανδρική υπογονιμότητα αποτελεί μια πολυπαραγοντική διαταραχή που επηρεάζει περίπου το 15% των ζευγαριών παγκοσμίως, με το 50% των περιπτώσεων να αποδίδεται στον ανδρικό παράγοντα. Παρά την κλινική ετερογένεια, η απορρύθμιση των μη-κωδικοποιητικών RNA (ncRNAs) αναδεικνύεται σε βασικό μηχανισμό πρόκλησης σπερματογενετικής βλάβης και ενδοκρινικών διαταραχών. Ειδικότερα, η οικογένεια microRNA-34 (κυρίως τα miR-34b και miR-34c) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της μείωσης και της μετα-μειωτικής διαφοροποίησης των σπερματίδων, στοχεύοντας γονίδια-κλειδιά όπως τα NOTCH1/2 και DAZL. Η μειωμένη έκφραση των miR-34b/c στο σπέρμα συσχετίζεται άμεσα με χαμηλά ποσοστά επιτυχίας στην ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίων (ICSI), καθώς το miR-34c είναι απαραίτητο για την πρώτη διαίρεση του ζυγωτού (Yeh et al., 2022). Παράλληλα, το miR-122 συμμετέχει στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, με τα επίπεδά του να αντικατοπτρίζουν

την αποτελεσματικότητα της σπερματογένεσης, καθώς εμφανίζονται αυξημένα σε ασθενείς με αποφρακτική αζωοσπερμία (OA) σε σύγκριση με τη μη αποφρακτική μορφή (NOA).

Σοβαρότερες μορφές υπογονιμότητας, όπως η αζωοσπερμία, συνδέονται άρρηκτα με ανεπάρκειες στο μονοπάτι των piRNAs και των πρωτεϊνών PIWI (Gou et al., 2017). Μεταλλάξεις στο γονίδιο PIWIL1 (HIWI), ιδιαίτερα στην περιοχή του «destruction box» (D-box), εμποδίζουν την αποικοδόμηση της πρωτεΐνης κατά την όψιμη σπερμιογένεση (Gou et al., 2017). Η παθολογική σταθεροποίηση του HIWI προκαλεί την κατακράτηση της ubiquitin ligase RNF8 στο κυτταρόπλασμα, εμποδίζοντας την ουβικουιτινίωση των ιστονονών και τη μεταγενέστερη αντικατάστασή τους από πρωταμίνες (Gou et al., 2017). Αυτή η διαταραχή της ανταλλαγής ιστονονών-πρωταμινών οδηγεί σε πλήρη στασιμότητα της σπερματογένεσης και παραγωγή σπερματοζωαρίων με ανώμαλη μορφολογία και γονιδιωματική αστάθεια (Gou et al., 2017). Επιπλέον, μεταλλάξεις στο PIWIL4 οδηγούν σε αποτυχία της de novo μεθυλίωσης των μεταθετών στοιχείων (όπως το LINE-1), προκαλώντας γονιδιωματική κατάρρευση στα γεννητικά κύτταρα.

Σε επίπεδο μακρών μη-κωδικοποιητικών RNA, το HOTAIR λειτουργεί ως επιγενετικός ρυθμιστής της οξειδωτικής ομοιόστασης στον όρχι. Η χαμηλή έκφραση του HOTAIR στα σπερματοζωάρια ασθενών με ασθενοζωοσπερμία οδηγεί σε υπορρύθμιση του αντιοξειδωτικού παράγοντα Nrf2 μέσω μειωμένης ακετυλίωσης της ιστόνης H4 στον υποκινητή του (Zhang et al., 2015). Η επακόλουθη συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και η λιπιδική υπεροξειδωση (αύξηση MDA) προκαλούν εκτεταμένο κατακερματισμό του DNA και σοβαρή μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων (Zhang et al., 2015).

Τέλος, η νευροενδοκρινική ρύθμιση της αναπαραγωγής μέσω του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (HPG) ελέγχεται από τα miR-7 και miR-9. Το miR-7 (συγκεκριμένα το πρόδρομο miR-7a2) είναι ο κυρίαρχος ρυθμιστής της σύνθεσης των γοναδοτροπινών στην υπόφυση, καταστέλλοντας αρνητικούς ρυθμιστές όπως το GLG1 (ενισχύοντας τη σήμανση BMP4) και το PTGFRN, με την έλλειψή του να προκαλεί σοβαρό υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό (Ahmed et al., 2017). Αντίστοιχα, το miR-9 είναι απαραίτητο για τη γένεση και τη

σωστή μετανάστευση των GnRH νευρώνων από το ρινικό πλακίδιο στον υποθάλαμο, καθώς ρυθμίζει τον παράγοντα Foxg1 (Garaffo et al., 2015). Η απουσία αυτών των miRNAs οδηγεί σε φαινότυπο συνδρόμου Kallmann, δείχνοντας τη σημασία των ncRNAs στη διαμόρφωση της κεντρικής αναπαραγωγικής ικανότητας (Garaffo et al., 2015).

6.6 Ενδομητρίωση και μη-Κωδικοποιητικά RNAs

Η ενδομητρίωση αποτελεί μια οιστρογονοεξαρτώμενη χρόνια φλεγμονώδη νόσο που επηρεάζει περίπου το 10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και το 35–50% των γυναικών με υπογονιμότητα. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδομητρικού ιστού (αδένων και στρώματος) σε έκτοπες θέσεις, κυρίως στην πυελική κοιλότητα. Η εγκατάσταση και η επιβίωση των έκτοπων αλλοιώσεων βασίζονται σε δύο βασικές κυτταρικές διαδικασίες: την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάπτωση (EMT) και την αποφυγή της απόπτωσης, διεργασίες που ρυθμίζονται στενά από miRNAs και lncRNAs (Raja et al., 2021).

Σημαντικό ρόλο στην καταστολή της EMT διαδραματίζει η οικογένεια microRNA-200 (miR-200a, -200b, -200c, -141 και -429). Τα μέλη αυτής της οικογένειας λειτουργούν ως προστάτες του επιθηλιακού φαινοτύπου, καταστέλλοντας άμεσα τους μεταγραφικούς παράγοντες ZEB1 και ZEB2, οι οποίοι επάγουν τη μετάπτωση των επιθηλιακών κυττάρων σε μεσεγχυματικά. Πρόσφατα δεδομένα (Ntzeros et al., 2025) δείχνουν ότι η οδός miR-200b/ZEB1/E-CADHERIN απορρυθμίζεται διαφορετικά στις διάφορες μορφές της νόσου. Συγκεκριμένα, στα ενδομητρίωματα της ωοθήκης παρατηρείται σημαντική υποέκφραση του miR-200b, η οποία οδηγεί σε μείωση της E-CADHERIN και ενίσχυση της μεσεγχυματικής δυναμικής, διευκολύνοντας την επεμβατικότητα των κυττάρων (Ntzeros et al., 2025).

Παράλληλα, το μακρό μη-κωδικοποιητικό RNA H19 αναδεικνύεται σε master regulator της επιβίωσης και του πολλαπλασιασμού των έκτοπων κυττάρων. Ενώ το H19 ανιχνεύεται μειωμένο στο ευτοπικό ενδομήτριο των ασθενών (επηρεάζοντας τη δεκτικότητα στην εμφύτευση), εμφανίζεται έντονα αυξημένο στις έκτοπες αλλοιώσεις (Peng et al., 2023). Μέσω του άξονα H19/miR-124-3p/ITGB3, το H19 προάγει τον πολλαπλασιασμό και την εισβολή των ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων στον περιτοναϊκό ιστό. Πειραματικά μοντέλα in vivo

επιβεβαιώνουν ότι η σίγαση του H19 καταστέλλει σημαντικά την ανάπτυξη των ενδομητρίωσικών εστιών, υποδεικνύοντας το ως έναν ισχυρό θεραπευτικό στόχο (Liu et al., 2021).

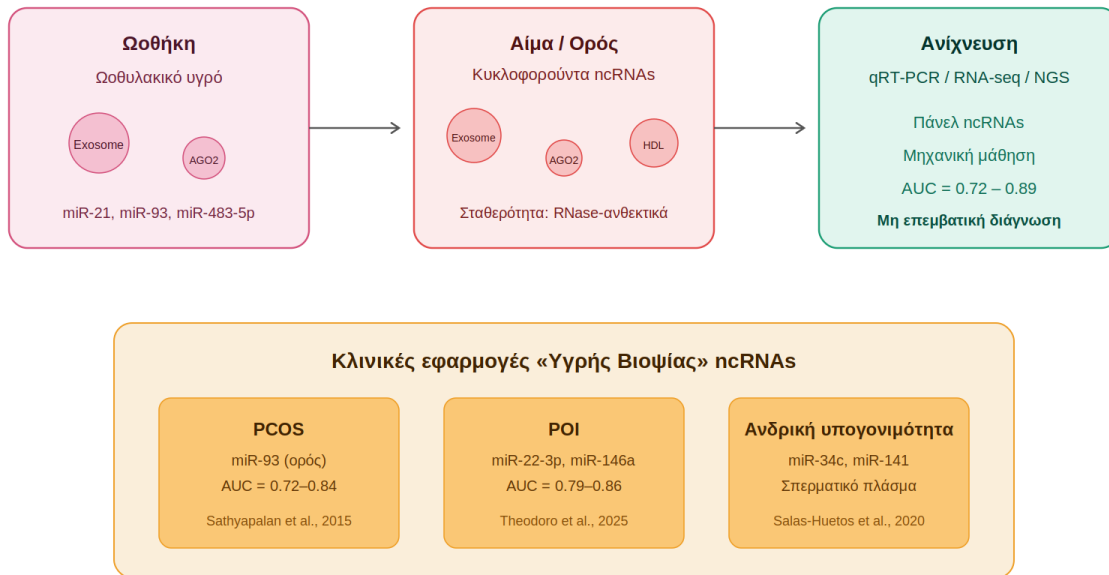
Η σύνδεση της ενδομητρίωσης με την υπογονιμότητα είναι πολυπαραγοντική. Πέρα από τις ανατομικές αλλοιώσεις, η απορρύθμιση των ncRNAs επηρεάζει την ποιότητα των ωοκυττάρων και τη δεκτικότητα του ενδομητρίου. Η χρόνια φλεγμονή και η συσσώρευση ελεύθερου σιδήρου από τις αιμορραγίες των εστιών προκαλούν οξειδωτικό στρες, το οποίο επάγει τη σιδηρόπτωση (ferroptosis) στα γειτονικά κοκκίωδη κύτταρα, υποβαθμίζοντας το μικροπεριβάλλον του ωοθυλακίου. Επιπλέον, η απορρύθμιση της οδού H19/let-7/IGF1R στο ευτοπικό ενδομήτριο παρεμποδίζει την προετοιμασία για την εμβρυϊκή εμφύτευση, συμβάλλοντας στην αποτυχία των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Ghazal et al., 2015).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

7.1 Κλινικοί βιοδείκτες ανά παθολογία

Η σταθερότητα των ncRNAs στο εξωκυττάριο περιβάλλον —ενθυλακωμένα σε εξωσώματα ή συνδεδεμένα με πρωτεΐνες Argonaute-2— τα καθιστά ιδανικούς υποψηφίους για μη επεμβατικές «υγρές βιοψίες» (liquid biopsies). Ο παρακάτω πίνακας συνοψίζει τους κορυφαίους βιοδείκτες ανά παθολογική οντότητα:

Παθολογία	Εξειδικευμένο ncRNA	Βέλτιστο Κλινικό Δείγμα	Διαγνωστική Ακρίβεια (ROC/AUC)
Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)	miR-93	Ορός (Serum)	0.72 (έως 0.84 σε πάνελ)
Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI)	miR-22-3p	Ορός (Serum)	~0.67 (έως >0.85 σε πάνελ)
Ανδρική Υπογονιμότητα	miR-34c	Σπέρμα (Υγρό & Σπερματοζώαρια)	>0.90
Ενδομητρίωση	miR-200a	Ορός (Serum)	>0.75
Προεκλαμψία	miR-210	Πλάσμα (Plasma)	>0.82



Τα ncRNAs μεταφέρονται ενθυλακωμένα σε εξωσώματα ή συνδεδεμένα με πρωτεΐνες AGO2/HDL

Εικόνα 4: Η αρχή της «υγρής βιοψίας» ncRNAs στην αναπαραγωγική ιατρική. Τα ncRNAs (miRNAs, lncRNAs) εκκρίνονται από τους ωοθηκικούς ιστούς ενθυλακωμένα σε εξωσώματα ή συνδεδεμένα με AGO2/HDL, κυκλοφορούν σταθερά στο αίμα και ανιχνεύονται μέσω qRT-PCR/NGS ως μη-επεμβατικοί βιοδείκτες.

Η ανάλυση που ακολουθεί εμβαθύνει στην υποκείμενη παθοφυσιολογία του κάθε νοσήματος, διερευνώντας τους πολύπλοκους μηχανισμούς δράσης των συγκεκριμένων miRNAs και τους γονιδιακούς τους στόχους, αποκαλύπτοντας τις αιτιώδεις σχέσεις μεταξύ της μοριακής απορρύθμισης σε κυτταρικό επίπεδο και της τελικής κλινικής εικόνας που καλείται να διαχειριστεί ο ιατρός.

7.2 Μεθοδολογίες Ανίχνευσης και Χαρακτηρισμού Μη-Κωδικοποιών RNA στην Ανθρώπινη Αναπαραγωγή και τις Ενδοκρινικές Διαταραχές: Μια Συστηματική Ανασκόπηση (2015-2025)

Η κατανόηση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχει υποστεί μια θεμελιώδη μετατόπιση κατά την τελευταία δεκαετία, καθώς η επιστημονική κοινότητα αναγνώρισε ότι η συντριπτική πλειονότητα των μεταγραφόμενων αλληλουχιών αποτελεί πλέον βασικούς ρυθμιστές της

κυτταρικής φυσιολογίας και της παθοφυσιολογίας σύνθετων νόσων. Στο πεδίο της αναπαραγωγικής ιατρικής, η ανίχνευση ncRNAs όπως τα microRNAs (miRNAs), τα μακρά μη-κωδικοποιητικά RNA (lncRNAs) και τα κυκλικά RNA (circRNAs) αποτελούν απαραίτητα εργαλεία για τη διάγνωση διαταραχών όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS) και η ενδομητρίωση.

Η εξέλιξη των μεθοδολογιών ανίχνευσης μεταξύ 2015 και 2025 χαρακτηρίζεται από τη μετάβαση από τον απλό ποσοτικό προσδιορισμό στην απόλυτη ακρίβεια. Οι τεχνολογικές πλατφόρμες που εξετάζονται στην παρούσα ενότητα—RT-qPCR, NGS (RNA-seq), Microarrays, ddPCR και συστήματα βασισμένα στο CRISPR—προσφέρουν διαφορετικά επίπεδα ευαισθησίας και ειδικότητας.

Ποσοτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης με Αντίστροφη Μεταγραφή (RT-qPCR)

Η μέθοδος RT-qPCR παραμένει το «χρυσό πρότυπο» για την επαλήθευση των επιπέδων έκφρασης των RNA. Η αξιοπιστία της εξαρτάται από την ακεραιότητα του RNA (RIN > 7) και την αυστηρή τήρηση των κατευθυντήριων γραμμών MIQE 2.0 (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments), οι οποίες επικαιροποιήθηκαν το 2025 για την αντιμετώπιση των προβλημάτων αναπαραγωγιμότητας στη μοριακή έρευνα (Bustin et al., 2025).

Η ανάλυση της έκφρασης ncRNAs στο πλαίσιο του PCOS ανέδειξε τη σημασία της ακρίβειας. Συγκεκριμένα, πρόσφατες έρευνες κατέδειξαν ότι τα επίπεδα των miR-320-5p και miR-103a-5p στο πλάσμα διαφοροποιούν αποτελεσματικά τις έφηβες ασθενείς με PCOS από υγιή άτομα, επιτυγχάνοντας 100% ειδικότητα και 76% ευαισθησία (Mladenov et al., 2025).

Τεχνολογίες Μικροσυστοιχιών (Microarrays)

Οι μικροσυστοιχίες παραμένουν μια αξιόπιστη μέθοδος για τον προσδιορισμό προφίλ έκφρασης γνωστών μεταγράφων, προσφέροντας συγκρίσιμη ακρίβεια με το RNA-seq στην πρόβλεψη κλινικών τελικών σημείων. Στην αναπαραγωγική ενδοκρινολογία, έχουν χρησιμοποιηθεί μικροσυστοιχίες για να ταυτοποιηθούν 862 διαφορεικά εκφραζόμενα lncRNAs

στα κοκκιώδη κύτταρα (GCs) γυναικών με PCOS (Liu et al., 2017). Το lncRNA HCG26 βρέθηκε σημαντικά αυξημένο και συσχετίστηκε θετικά με τον αριθμό των ώριμων ωοθυλακίων, υποδηλώνοντας σημαντικό ρόλο στη θυλακιογένεση (Liu et al., 2017).

Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς (NGS /RNA-seq)

Η τεχνολογία RNA-seq προσφέρει μια ψηφιακή εικόνα του μεταγραφώματος χωρίς την ανάγκη προκαθορισμένων ιχνηλατών, επιτρέποντας την *ab initio* ανακάλυψη νέων ncRNAs. Αναλύοντας τη δυναμική των lncRNAs κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του ανθρώπινου προεμφυτευτικού εμβρύου, φάνηκε ότι η μετάβαση από το στάδιο των 2 κυττάρων στα 4 κύτταρα αποτελεί σημείο καμπής με τον μεγαλύτερο αριθμό διαφορεικά εκφραζόμενων lncRNAs (Zhang et al., 2023).

Επιπλέον, στην ενδομητρίωση, χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία το RNA-seq για να εντοπιστεί αυξημένη έκφραση των γονιδίων LAMB3 και HIF1A στο ενδομήτριο ασθενών κατά την εκκριτική φάση, συνδέοντάς τα άμεσα με διαταραχές στην αγγειογένεση και την κυτταρική προσκόλληση (Choi et al., 2024).

Ψηφιακό PCR σε Μικροσταγονίδια (ddPCR)

Ο ddPCR προσφέρει απόλυτη ποσοτικοποίηση μέσω της στατιστικής Poisson, χωρίς την ανάγκη πρότυπων καμπυλών. Η μέθοδος υπερτερεί του qPCR στην ανίχνευση ncRNAs χαμηλής αφθονίας, όπως αυτά που εκκρίνονται από μεμονωμένα έμβρυα στο καλλιεργητικό μέσο. Η ευαισθησία της τεχνολογίας επιτρέπει την ανίχνευση έως και 90.32 αντιγράφων/μL, καθιστώντας την ιδανική για υγρές βιοψίες.

Διαγνωστικές Πλατφόρμες CRISPR-Cas και Μεθοδολογικοί Περιορισμοί

Τα συστήματα CRISPR-Cas12 και CRISPR-Cas13 αποτελούν καινοτόμες προσεγγίσεις στη μοριακή διάγνωση RNA λόγω της δραστηριότητας *trans-cleavage*. Ωστόσο, η εφαρμογή τους σε επίπεδο σάρωσης ολόκληρου του μεταγραφώματος (*transcriptome-wide screens*) αντιμετωπίζει σημαντικές προκλήσεις. Πρόσφατες αναλύσεις κατέδειξαν ότι οι βιβλιοθήκες CRISPR-Cas13 μπορεί να παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά *off-target* επιδράσεων σε απαραίτητα πρωτεϊνοκωδικοποιητικά γονίδια (έως και 68.1% των gRNAs), γεγονός που οδήγησε στην

επανεκτίμηση προηγούμενων ευρημάτων σχετικά με την “απαραιτητότητα” χιλιάδων lncRNAs. Αυτή η εξέλιξη δείχνει την ανάγκη για αυστηρότερο φιλτράρισμα των βιβλιοθηκών και περαιτέρω βελτιστοποίηση των CRISPR εργαλείων πριν την κλινική τους εφαρμογή.

7.3 Προκλήσεις και περιορισμοί στην κλινική εφαρμογή των μη κωδικοποιητικών RNAs

Η ανάδειξη των μη κωδικοποιητικών RNAs (ncRNAs) ως βασικών ρυθμιστών της ανθρώπινης αναπαραγωγής έχει ανοίξει νέους ορίζοντες στην κατανόηση της μοριακής παθοφυσιολογίας ενδοκρινικών διαταραχών, όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η ενδομητρίωση και η πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια. Παρά την πληθώρα ερευνητικών δεδομένων που υποδεικνύουν ότι μόρια όπως τα microRNAs (miRNAs), τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNAs (lncRNAs) και τα κυκλικά RNAs (circRNAs) μπορούν να χρησιμεύσουν ως ευαίσθητοι βιοδείκτες, η ενσωμάτωσή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική παραμένει περιορισμένη. Η μετάβαση από την εργαστηριακή ανακάλυψη στη διαγνωστική εφαρμογή παρεμποδίζεται από ένα σύμπλεγμα τεχνικών, μεθοδολογικών και ηθικών προκλήσεων που απαιτούν συστηματική αντιμετώπιση.

7.3.1 Έλλειψη τυποποίησης (Standardization) στις μεθοδολογίες ανάλυσης

Η απουσία καθολικά αποδεκτών πρωτοκόλλων για την απομόνωση, την ποσοτικοποίηση και την κανονικοποίηση των ncRNAs αποτελεί το σημαντικότερο εμπόδιο για την αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων. Στο πεδίο της αναπαραγωγικής ιατρικής, όπου οι συγκεντρώσεις των ncRNAs σε βιολογικά υγρά όπως το ωοθυλακικό υγρό ή το σπερματικό πλάσμα μπορεί να είναι πολύ χαμηλές, ακόμη και μικρές αποκλίσεις στη μεθοδολογία μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένα συμπεράσματα (Zendjabil, 2024). Η τυποποίηση είναι απαραίτητη σε όλα τα στάδια, από τη χρήση συγκεκριμένων κιτ εκχύλισης RNA έως τις παραμέτρους της αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) και της ποσοτικής PCR (qPCR).

Ενώ τα miRNAs και τα lncRNAs ρυθμίζουν βασικές φάσεις της γαμετογένεσης και της εμφύτευσης, η έλλειψη τυποποιημένων πρωτοκόλλων (standardized protocols) και η υψηλή

μεταβλητότητα στην έκφραση εμποδίζουν τη χρήση τους ως αξιόπιστων διαγνωστικών εργαλείων (Borji et al., 2025). Επιπλέον, η επίτευξη αναπαραγωγικών προφίλ έκφρασης απαιτεί αυστηρή τυποποίηση ολόκληρης της διαδικασίας, με ιδιαίτερη έμφαση στη στρατηγική κανονικοποίησης (normalization strategy), την επιλογή του αντιπηκτικού και τη μέθοδο φυγοκέντρησης για την απομάκρυνση των αιμοπεταλίων (Zendjabil, 2024).

7.3.2 Ανάγκη για πολυκεντρικές μελέτες επικύρωσης (Multicenter Validation)

Μια από τις κύριες αδυναμίες της τρέχουσας βιβλιογραφίας είναι ότι ο εντοπισμός υποψήφιων ncRNA βιοδεικτών βασίζεται συχνά σε μελέτες μικρού δείγματος (small-scale pilot studies), γεγονός που οδηγεί στο φαινόμενο του “overfitting”. Στην αναπαραγωγική ενδοκρινολογία, παράγοντες όπως η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), η εθνικότητα και ο τρόπος ζωής επηρεάζουν σημαντικά το ncRNAome.

Αν και τα κυκλοφορούντα ncRNAs προσφέρουν σημαντικές δυνατότητες διάγνωσης και πρόγνωσης, απαιτούνται μεγάλης κλίμακας, ανεξάρτητες και πολυκεντρικές μελέτες (large, independent, multi-centre cohort studies) για την επικύρωση αυτών των ευρημάτων, ειδικά σε ετερογενείς παθήσεις όπως το PCOS (Kumar et al., 2026). Η μεταβλητότητα στην έκφραση μεταξύ διαφορετικών ατόμων καθιστά απαραίτητη την επικύρωση σε μεγάλα δείγματα πληθυσμού προκειμένου να διασφαλιστεί ότι οι ncRNA βιοδείκτες αντικατοπτρίζουν την πραγματική παθοφυσιολογική κατάσταση (Borji et al., 2025).

7.3.3 Προ-αναλυτικές μεταβλητές: Αιμόλυση και συνθήκες αποθήκευσης

Οι προ-αναλυτικές μεταβλητές αποτελούν την κύρια πηγή σφαλμάτων. Η αιμόλυση είναι ο πλέον σημαντικός παράγοντας επιμόλυνσης, καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις συγκεκριμένων miRNAs, όπως το miR-451a και το miR-486. Ακόμη και ένας ελάχιστος βαθμός αιμόλυσης μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα αυτών των μορίων στο πλάσμα κατά πολλές τάξεις μεγέθους, αλλοιώνοντας τα αποτελέσματα (Chandel et al., 2024).

Επιπλέον, οι συνθήκες αποθήκευσης επηρεάζουν δραματικά τη σταθερότητα. Η αιμόλυση έχει σημαντικό αντίκτυπο στις συγκεντρώσεις των miR-451a και miR-423-5p στο πλάσμα, ενώ άλλα

μόρια όπως το miR-199a-3p παραμένουν ανεπηρέαστα (Chandel et al., 2024). Οι βέλτιστες πρακτικές επιβάλλουν την επεξεργασία των δειγμάτων εντός 2 ωρών από τη συλλογή και τη χρήση EDTA ως προτιμώμενου αντιπηκτικού, καθώς η ηπαρίνη αναστέλλει την αντίδραση PCR (Khan et al., 2017).

7.3.4 Θέματα ηθικής και γενετικού απορρήτου (Genetic Privacy)

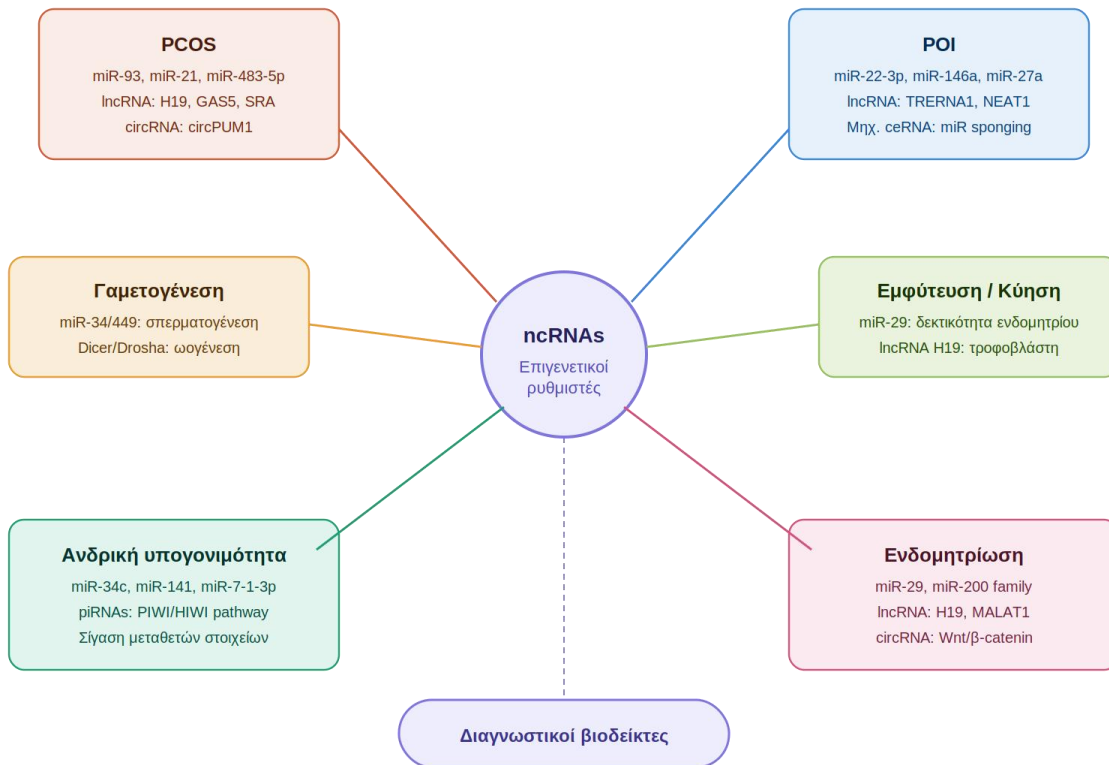
Η σημαντική εξέλιξη των τεχνολογιών NGS εγείρει σύνθετα ηθικά ερωτήματα, καθώς τα δεδομένα αυτά θεωρούνται πλέον μέρος της γενετικής ταυτότητας. Ο μεγάλος όγκος δεδομένων καθιστά δύσκολη τη διατήρηση του απορρήτου, ενώ υπάρχει κίνδυνος αποκάλυψης δευτερευόντων ευρημάτων (incidental findings) που δεν σχετίζονται με την αρχική κλινική ερώτηση, όπως η προδιάθεση για καρκίνο σε μια εξέταση υπογονιμότητας (Martinez-Martin & Magnus, 2020).

Στην αναπαραγωγική ιατρική, η ευκολία της εξέτασης μέσω μιας απλής αιμοληψίας μπορεί να οδηγήσει σε “ρουτινοποίηση” (routinization) και ελλιπή ενημερωμένη συγκατάθεση. Πρέπει να διασφαλιστεί η αναπαραγωγική αυτονομία (procreative autonomy) και να προστατευτούν οι ασθενείς από κοινωνικές πιέσεις ή στιγματισμό που μπορεί να προκύψει από τα γενετικά αποτελέσματα (Zaami et al., 2021).

Σύνοψη και συμπεράσματα

Η έρευνα για τα ncRNAs ως βιοδείκτες βρίσκεται σε σημείο καμπής. Η επιστημονική κοινότητα πρέπει να μετακινηθεί από την απλή ανακάλυψη μορίων προς την αυστηρή τυποποίηση και επικύρωση των μεθόδων. Η αντιμετώπιση προ-αναλυτικών μεταβλητών και η θέσπιση ισχυρών ηθικών πλαισίων είναι θεμελιώδεις απαιτήσεις για την αξιοπιστία της διάγνωσης και την προστασία του ασθενούς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ



Εικόνα 5: Συνολική απεικόνιση των δικτύων ncRNAs στην αναπαραγωγική παθολογία. Τα ncRNAs (miRNAs, lncRNAs, circRNAs, piRNAs) αποτελούν κοινό ρυθμιστικό κόμβο που συνδέει τη γαμετογένεση, την εμφύτευση και τις ενδοκρινικές διαταραχές (PCOS, POI, ενδομητρίωση, ανδρική υπογονιμότητα) με τη δυνατότητα διαγνωστικής αξιοποίησης ως βιοδεικτών.

8.1 Η ρύθμιση της ανθρώπινης αναπαραγωγής από μη-κωδικοποιούντα RNA (miRNA, lncRNA, circRNA): Μια ολοκληρωμένη σύνθεση ευρημάτων και σύγκριση της διαγνωστικής τους αξίας σε ενδοκρινικές διαταραχές

Η ολοκλήρωση του Προγράμματος του Ανθρώπινου Γονιδιώματος έδειξε ότι η πλειονότητα του γονιδιώματος (άνω του 70%-80%) μεταγράφεται ενεργά σε μη-κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs), τα οποία αποτελούν βασικούς ρυθμιστικούς πυλώνες της κυτταρικής φυσιολογίας. Στο πεδίο της ανθρώπινης αναπαραγωγής, αυτά τα μόρια λειτουργούν ως ενορχηστρωτές περίπλοκων

βιολογικών διαδικασιών, συνδέοντας το γενετικό υπόβαθρο με τις περιβαλλοντικές επιδράσεις και διασφαλίζοντας την αναπαραγωγική ικανότητα.

Ρύθμιση της γαμετογένεσης από ncRNAs

- Σπερματογένεση και αζωοσπερμία

Τα miRNAs είναι απαραίτητα για τη διατήρηση των σπερματογονιακών βλαστοκυττάρων (SSCs). Σε ασθενείς με μη-αποφρακτική αζωοσπερμία (NOA), παρατηρείται σημαντική υπερέκφραση των miR-141 και miR-7-1-3p στο σπερματικό πλάσμα. Το miR-141 καταστέλλει τα γονίδια *Cbl* και *Tgfb2*, ενώ το miR-7-1-3p στοχεύει τα *Rb1* και *Pik3r3*, εμποδίζοντας τη φυσιολογική σπερματογένεση. Επιπλέον, η χαμηλή έκφραση του miR-34c συνδέεται με διαταραχές μέσω του μονοπατιού NOTCH2, ενώ ακραίες δυσλειτουργίες της σπερματογένεσης συνδέονται με τον άξονα PIWI/piRNA και το γονίδιο HIWI (Gou et al., 2017).

- Ωογένεση και ωοθυλακική ανάπτυξη

Τα ncRNAs ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων (GCs). Το lncRNA GCAT1 (ή LINC02690) βρέθηκε μειωμένο σε ασθενείς με βιοχημική πρώιμη ωοθηκική ανεπάρκεια (bPOI). Η μείωσή του οδηγεί σε αύξηση της πρωτεΐνης p27 (CDKN1B) μέσω ανταγωνιστικής σύνδεσης με την PTBP1, προκαλώντας αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1/S και ωοθυλακική ατρησία (Li et al., 2020).

Παθογένεια ενδοκρινικών διαταραχών: Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)

- Μεταβολική Δυσλειτουργία και Ινσουλινοαντοχή

Η ινσουλινοαντοχή αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό του PCOS. Το miR-93 υπερεκφράζεται στον λιπώδη ιστό ασθενών, όπου καταστέλλει τον μεταφορέα γλυκόζης GLUT4 (Sathiyaralan et al., 2015). Επιπλέον, το miR-133a-3p βρέθηκε αυξημένο στον λιπώδη ιστό παχύσαρκων γυναικών με PCOS, όπου αναστέλλει το μονοπάτι PI3K/AKT, επηρεάζοντας τη συστηματική ευαισθησία στην ινσουλίνη. Μια νέα πτυχή αφορά τα εξωσώματα του λιπώδους ιστού που μεταφέρουν το miR-141-3p· η μείωση αυτού του miRNA οδηγεί σε ηπατική ινσουλινοαντοχή μέσω στόχευσης της PTEN.

- Ο άξονας circLDLR / miR-1294 / CYP19A1

Μια από τις πιο καλά τεκμηριωμένες διαταραχές circRNA στο PCOS αφορά το circLDLR (hsa_circ_0006877). Η μείωση του circLDLR στα εξωσώματα του ωοθυλακικού υγρού απελευθερώνει τη δράση του miR-1294, το οποίο με τη σειρά του καταστέλλει την έκφραση της αρωματάσης (CYP19A1) (Hu et al., 2022). Αυτή η απορρύθμιση οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή οιστραδιόλης (E_2) και συμβάλλει στον υπερανδρογονισμό και την ανωορρηξία.

- Πρώιμη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI) και lncRNAs

Τα lncRNAs ρυθμίζουν την επιβίωση των GCs στην POI:

- PVT1: Η μείωσή του στην POI προάγει την απόπτωση των GCs μέσω της ενεργοποίησης (αποφωσφορύλωσης) του Foxo3a.
- HCP5: Συμμετέχει στην επιδιόρθωση βλαβών DNA (DNA damage repair) στοχεύοντας τα MSH5 και YB1. Η μείωσή του επιταχύνει την ατρησία.
- HOTAIR: Έχει επιβεβαιωθεί ως αποτελεσματικός βιοδείκτης για την πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης POI.

Εμβρυογένεση και Εμφύτευση

Σε περιπτώσεις επαναλαμβανόμενης αποτυχίας εμφύτευσης (RIF), εντοπίστηκαν 856 circRNAs με διαφορετική έκφραση στο ενδομήτριο (Liu et al., 2020). Τα hsa_circRNA_070616 και hsa_circRNA_104001 βρέθηκαν αυξημένα, ενώ το hsa_circRNA_004183 βρέθηκε μειωμένο σε ασθενείς με RIF, υποδεικνύοντας τον ρόλο τους στη δεκτικότητα του ενδομητρίου (Liu et al., 2020).

Σύγκριση της διαγνωστικής αξίας των ncRNAs

Η ανάγκη για μη-επεμβατικούς βιοδείκτες έχει στρέψει την προσοχή στην υγρή βιοψία. Τα circRNAs θεωρούνται ανώτεροι βιοδείκτες λόγω της κυκλικής τους δομής που τα προστατεύει από τις RNases και τους επαναλαμβανόμενους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης. Ωστόσο, τα πολυμεταβλητά πάνελ (panel) προσφέρουν τη βέλτιστη διαγνωστική ακρίβεια:

Βιοδείκτης	Διαταραχή	Δείγμα	AUC / Απόδοση
miRNA panel (8-miR)	PCOS	Serum	AUC = 0.83
lncRNA TUG1/miR-141	NOA (Male)	Serum	AUC = 0.93
9-lncRNA EV panel	NOA (Male)	Seminal Plasma EVs	AUC = 0.96-0.97 (Zhao et al., 2020)
ncRNA panel (2-3)	Preeclampsia	Plasma	AUC = 0.94
circRNA meta-analysis	Repro. diseases	Various	AUC = 0.76

Συμπεράσματα

Η σύνθεση των δεδομένων επιβεβαιώνει ότι τα ncRNAs αποτελούν τους βασικούς ρυθμιστικούς παράγοντες της ανθρώπινης αναπαραγωγής. Στο PCOS, ο άξονας circDLR / miR-1294 / CYP19A1 συνδέει τη διαταραχή των circRNAs με τον υπερανδρογονισμό. Στην POI, lncRNAs όπως το PVT1 και το GCAT1 καθορίζουν την επιβίωση των κοκκιωδών κυττάρων. Από διαγνωστική σκοπιά, τα circRNAs υπερέχουν σε σταθερότητα, αλλά η μέγιστη ακρίβεια επιτυγχάνεται μέσω συνδυαστικών πάνελ (π.χ. 9-lncRNA EV panel για την NOA), προσφέροντας νέες προοπτικές στην εξατομικευμένη αναπαραγωγική ιατρική.

8.2 Ρύθμιση της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής από Μη-Κωδικοποιητικά RNAs και η Σύνδεσή τους με Ενδοκρινικές Διαταραχές: Κλινικές Προεκτάσεις και Προοπτικές Ιατρικής Ακρίβειας

Πρώρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI): Μοριακή Διάγνωση και Νέες Κατευθυντήριες Οδηγίες

Οι πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες της ESHRE (2024/2025) ορίζουν ότι μία μόνο αυξημένη τιμή FSH > 25 IU/L αρκεί για τη διάγνωση της POI (Panay et al., 2025). Παρά την πρόοδο, ένα σημαντικό ποσοστό (36,9% σε σύγχρονες κοόρτες) παραμένει ιδιοπαθές (Csehely et al., 2025). Υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για τον ρόλο των piRNA clusters και του γονιδίου PRDM9 ως πιθανών αιτιών υπογονιμότητας.

Συγκεκριμένα lncRNAs δρουν ως μοριακοί μάρτυρες της ωοθηκικής εξάντλησης:

- HOTAIR: Η μείωση της έκφρασής του συνδέεται με POI μέσω του μονοπατιού miR-148b-3p/ATG14 (Luo et al., 2024).

- GCAT1: Η καταστολή του οδηγεί σε παύση πολλαπλασιασμού των GCs μέσω του τελεστή p27 (D. Li et al., 2021a).
- ZNF674-AS1: Ρυθμίζει τον μεταβολισμό των GCs και την ενεργοποίηση του AMPK μέσω της πρωτεΐνης ALDOA (D. Li et al., 2021b).
- PVT1: Η μείωση της έκφρασής του προάγει την απόπτωση μέσω επαγωγής του μεταγραφικού παράγοντα Foxo3a (Wang et al., 2021).

Δεκτικότητα Ενδομητρίου: Το miRNome ως Πλοηγός

Η επιτυχής εμφύτευση ρυθμίζεται από μια ακριβή αλληλουχία μοριακών γεγονότων, όπου τα miRNAs παίζουν σημαντικό ρόλο.

Μέθοδος/Μοντέλο	Απόδοση (Accuracy)	Εφαρμογή
Logistic Regression / Random Forest	91,9%	Ταξινόμηση φάσεων (Pre, Rec, Post) μέσω NGS (Chang et al., 2023)
Regulatory meta-signature	19 miRs	Ταυτοποίηση ρυθμιστών γονιδίων δεκτικότητας (Altmäe et al., 2017)

Η ενσωμάτωση αυτών των μοντέλων επιτρέπει τον εξατομικευμένο συγχρονισμό της εμβρυομεταφοράς (pET). Επιπλέον, η υπερέκφραση των miR-152-3p και miR-155-5p στο δεκτικό ενδομήτριο έχει συσχετιστεί με αποτυχία εμφύτευσης. Μόρια όπως τα miR-21, miR-27a και miR-135b παρουσιάζουν διαγνωστική συνέργεια, καθώς εμπλέκονται τόσο στη δεκτικότητα όσο και στην παθογένεια του καρκίνου του ενδομητρίου.

Επιλοκές της Κύησης και Προεκλαμψία: Προγνωστική Ισχύς των ncRNAs

Η προεκλαμψία (PE) μπορεί να ανιχνευθεί μέσω ncRNAs ήδη από το πρώτο τρίμηνο. Η χρήση συνδυαστικών πάνελ (2-3 ncRNAs) επιτυγχάνει AUC 0,94, με ευαισθησία 91% και ειδικότητα 80% (J. Liu et al., 2025). Η μείωση του tiRNA-Gln-CTG στο πλάσμα αποτελεί ισχυρό προγνωστικό δείκτη για την ανάπτυξη PE (tiRNA-Gln-CTG as a potent biomarker for preeclampsia, 2025). Σημαντικό κλινικό στοιχείο είναι ότι περίπου το 20% των περιπτώσεων PE δεν παρουσιάζει σημαντική λευκωματουρία κατά τη διάγνωση.

Θεραπευτικές Στρατηγικές Βασισμένες σε RNA

Η έγχυση mRNA που κωδικοποιεί τη φωσφολιπάση PLCζ προσφέρει λύση σε περιπτώσεις αποτυχίας ενεργοποίησης του ωοκυττάρου (Nomikos et al., 2024). Στον τομέα της ογκολογίας, mRNA-based εμβόλια δείχνουν μείωση του κινδύνου υποτροπής κατά 44% σε δοκιμές για μελάνωμα (Stallard et al., 2025).

Το κόστος παραμένει πρόκληση, με τα εξατομικευμένα RNA εμβόλια να εκτιμώνται άνω των \$100.000 ανά ασθενή. Ωστόσο, η χρήση υγρών βιοψιών στην κλινική πράξη μπορεί να οδηγήσει σε εξοικονόμηση περίπου \$3.000 ανά ασθενή μέσω της αποφυγής επιπλοκών και επεμβατικών μεθόδων (Chico-Sordo et al., 2024).

8.3 Περιορισμοί της παρούσας εργασίας

Η μελέτη των μη-κωδικοποιητικών RNAs (ncRNAs) ως βιοδεικτών στην ανθρώπινη αναπαραγωγή και η σύνδεσή τους με ενδοκρινικές διαταραχές αποτελεί ένα δυναμικό αλλά μεθοδολογικά σύνθετο πεδίο. Η παρούσα ανασκόπηση υπόκειται σε συγκεκριμένους περιορισμούς που αφορούν τη φύση των πρωτογενών δεδομένων, την έλλειψη τυποποίησης και το χάσμα μεταξύ εργαστηριακής ανακάλυψης και κλινικής εφαρμογής. Κατά τη συλλογή της βιβλιογραφίας, διαπιστώθηκε ότι σημαντικό μέρος των μελετών circRNA στην αναπαραγωγή βασίζεται ακόμα σε ζωικά μοντέλα, γεγονός που περιορίζει τον αριθμό των εντάξιμων δημοσιεύσεων.

1. Μεθοδολογική Ετερογένεια και Τεχνικές Προκλήσεις

Η έλλειψη ομοιόμορφων πρωτοκόλλων αποτελεί τον σημαντικότερο φραγμό στη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ διαφορετικών μελετών (Borji et al., 2025).

- **Διαχείριση και Απομόνωση Δειγμάτων:** Η συγκέντρωση των ncRNAs στα βιολογικά υγρά επηρεάζεται άμεσα από τις συνθήκες συλλογής. Για παράδειγμα, η χρήση διαφορετικών μεθόδων απομόνωσης εξωσωμάτων (υπερφυγοκέντρηση έναντι χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγέθους - SEC) οδηγεί σε δείγματα διαφορετικής καθαρότητας και περιεκτικότητας σε RNA. Στο ωοθυλακικό υγρό, η επιμόλυνση από αίμα κατά την

αναρρόφηση των ωοθυλακίων μπορεί να αλλοιώσει το προφίλ των miRNAs, εισάγοντας “θόρυβο” από το συστηματικό κυκλοφορικό.

- **Προβλήματα Κανονικοποίησης (Normalization):** Η ακρίβεια της RT-qPCR εξαρτάται από την επιλογή σταθερών γονιδίων αναφοράς. Η ευρεία χρήση του U6 snRNA αμφισβητείται πλέον έντονα στην αναπαραγωγική ενδοκρινολογία, καθώς η έκφρασή του εμφανίζει υψηλή μεταβλητότητα σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και στον ορό, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένους υπολογισμούς μέσω της μεθόδου $2^{-\Delta\Delta Ct}$.
- **Τεχνολογική Μεταβλητότητα:** Η χρήση διαφορετικών πλατφορμών (microarrays, NGS, qPCR) εισάγει επιπλέον επίπεδα ετερογένειας λόγω των διαφορετικών ορίων ανίχνευσης και των μεροληψιών (biases) κατά την κατασκευή βιβλιοθηκών cDNA.

2. Το Χάσμα της Κλινικής Επικύρωσης και το Πρόβλημα του Overfitting

Ένα σημαντικό ζήτημα που παρατηρήθηκε κατά τη συγγραφή είναι η έλλειψη μεγάλων, πολυκεντρικών τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών (RCTs). Οι περισσότερες μελέτες διεξάγονται σε περιορισμένες κοόρτες, αυξάνοντας την πιθανότητα στατιστικών σφαλμάτων.

Παθολογία	ncRNA Βιοδείκτης	AUC (95% CI) / Metrics	Μεθοδολογική Παρατήρηση	Πηγή
Καρκίνος Ωοθηκών	miR-21, οικογένεια miR-200	0.79 – 0.86 (Pooled AUC)	Υψηλή ετερογένεια στα αποτελέσματα	(Kumar et al., 2026)
Επιλογή Εμβρύου (SCM)	sncRNAs (Pooled)	AUC: 0.81, Sens: 79%, Spec: 67%	Ανάγκη για προοπτική επικύρωση	(Huang et al., 2023)
PCOS (Εφηβες)	miR-320-5p, miR-103a-5p	Spec: 100%, Sens: 76%	Overfitting: Τιμές βασισμένες σε Training Set χωρίς ανεξάρτητο Validation	(Mladenov et al., 2025)
Προεκλαμψία (PE)	lncRNAs (Serum <20w)	0.81 – 0.88	Βασισμένο σε περιορισμένο αριθμό μελετών	(Cerillo et al., 2025)

Όπως επισημαίνεται στη βιβλιογραφία, ορισμένα miRNAs στο PCOS ή στον γυναικολογικό καρκίνο εμφανίζουν “σχεδόν τέλεια” διαγνωστική ικανότητα (AUC 1.000) σε αρχικά στάδια. Ωστόσο, οι τιμές αυτές πρέπει να ερμηνεύονται με επιφύλαξη, καθώς συχνά οφείλονται σε υπερπροσαρμογή (overfitting) των δεδομένων σε μικρά δείγματα (Kok et al., 2018), όπου η βιολογική ποικιλομορφία δεν αντιπροσωπεύεται επαρκώς (Kumar et al., 2026).

3. Μεροληψία Δημοσίευσης (Publication Bias)

Η παρούσα ανασκόπηση ενδέχεται να επηρεάζεται από τη μεροληψία δημοσίευσης, καθώς υπάρχει τάση για δημοσίευση μόνο των ncRNAs που εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορική έκφραση. Αρνητικά αποτελέσματα (μελέτες που δείχνουν μη στατιστικά σημαντική μεταβολή) σπάνια δημοσιεύονται, αποκλείοντας πιθανώς μόρια με ρυθμιστικό ρόλο που δεν έφτασαν το κατώφλι της σημαντικότητας σε μικρές μελέτες.

4. “In silico” Πρόβλεψη έναντι Λειτουργικής Επικύρωσης

Σημαντικό μέρος της διαθέσιμης βιβλιογραφίας βασίζεται σε βιοπληροφορικές προβλέψεις (in silico target prediction). Αν και αυτές είναι χρήσιμες για την ανάδειξη πιθανών μοριακών μονοπατιών, συχνά στερούνται πειραματικής επικύρωσης (in vitro ή in vivo) σε ανθρώπινα μοντέλα. Η απουσία λειτουργικής επιβεβαίωσης αφήνει κενά στην κατανόηση του πραγματικού βιολογικού αντίκτυπου των ncRNAs στη ρύθμιση της αναπαραγωγής.

5. Γλωσσικοί Περιορισμοί (Tower of Babel Bias)

Η παρούσα εργασία περιορίστηκε σε βιβλιογραφία αποκλειστικά στην αγγλική και ελληνική γλώσσα. Αυτό εισάγει τον περιορισμό “Tower of Babel bias”, καθώς η Κίνα αποτελεί την κυρίαρχη δύναμη παγκοσμίως στην έρευνα των ncRNAs, με έναν μεγάλο όγκο δεδομένων να δημοσιεύεται σε εθνικά περιοδικά που ενδέχεται να μην είναι πλήρως προσβάσιμα.

6. Βιολογική Πολυπλοκότητα και Δίκτυα ceRNA

Τέλος, η εστίαση σε μεμονωμένους βιοδείκτες αποτελεί μια αναγκαία απλούστευση. Τα ncRNAs λειτουργούν εντός περίπλοκων δικτύων ανταγωνιστικών ενδογενών RNA (ceRNA networks),

όπου η δράση τους εξαρτάται από την αλληλεπίδρασή τους με πολλαπλά μόρια, τον κυτταρικό τύπο και το αναπτυξιακό στάδιο (Borji et al., 2025).

8.4 Στρατηγικές μελλοντικής έρευνας στη ρύθμιση της ανθρώπινης αναπαραγωγής μέσω ncRNAs: Θεραπευτικές εφαρμογές, τεχνητή νοημοσύνη και πολυ-ωμική ολοκλήρωση

Η ανάδυση της αναπαραγωγικής ιατρικής ακριβείας μέσω του μη κωδικοποιούντος γονιδιώματος

Η κατανόηση της ανθρώπινης αναπαραγωγικής φυσιολογίας και παθολογίας έχει υποστεί μια ριζική μεταλλαγή, μετατοπιζόμενη από μια προσέγγιση εστιασμένη αποκλειστικά στις πρωτεΐνες σε μια βαθύτερη διερεύνηση του μη κωδικοποιούντος RNA (ncRNA). Τα ncRNAs δεν θεωρούνται πλέον «εξελικτικά υπολείμματα» αλλά ενεργοί ρυθμιστές της γονιδιακής ρύθμισης. Η σημασία τους είναι ιδιαίτερα εμφανής στην αναπαραγωγή, όπου ο ακριβής χρονισμός της γονιδιακής έκφρασης καθορίζει την επιτυχία της γαμετογένεσης, της εμβρυϊκής ανάπτυξης και της εμφύτευσης. Καθώς η έρευνα εισέρχεται στην επόμενη φάση της, οι μελλοντικές κατευθύνσεις επικεντρώνονται στη μετατροπή αυτής της γνώσης σε κλινικά εφαρμόσιμα εργαλεία, αξιοποιώντας τις θεραπευτικές ιδιότητες του RNA, τη διαγνωστική ισχύ της τεχνητής νοημοσύνης (AI) και την ολιστική προοπτική της ολοκλήρωσης πολυ-ωμικών δεδομένων.

Η ανάγκη για αυτή τη στροφή υπαγορεύεται από τους περιορισμούς των υφιστάμενων διαγνωστικών μεθόδων. Για παράδειγμα, στο Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η συμβατική διάγνωση παραμένει συχνά υποκειμενική λόγω της φαινοτυπικής ετερογένειας. Αντίστοιχα, στην ανδρική υπογονιμότητα, η κλασική ανάλυση σπέρματος αδυνατεί να αποκαλύψει τους υποκείμενους μοριακούς μηχανισμούς στο 60-75% των περιπτώσεων που χαρακτηρίζονται ως ιδιοπαθείς. Η μελλοντική έρευνα στοχεύει στην υπέρβαση αυτών των εμποδίων μέσω της αναγνώρισης ειδικών υπογραφών ncRNA που λειτουργούν ως δυναμικοί βιοδείκτες και θεραπευτικοί στόχοι.

Θεραπευτικές εφαρμογές βασισμένες σε RNA: Μια νέες δυνατότητες μοριακής παρέμβασης

Η ανάπτυξη θεραπειών βασισμένων σε RNA (RNA therapeutics) αντιπροσωπεύει ίσως την πιο υποσχόμενη κατεύθυνση για την αντιμετώπιση αναπαραγωγικών διαταραχών. Οι στρατηγικές αυτές χωρίζονται κυρίως στη θεραπεία υποκατάστασης με μιμητικά miRNAs (miRNA mimics) και στην αντινοσηματική θεραπεία με αναστολείς miRNAs (anti-miRNA).

Μηχανισμοί δράσης και μοριακή μηχανική

Η θεραπεία υποκατάστασης χρησιμοποιείται όταν ένα ncRNA είναι ελλιπές. Τα miRNA mimics είναι συνθετικά μόρια που μιμούνται τη λειτουργία του ενδογενούς miRNA για να προκαλέσουν σίγαση των γονιδίων-στόχων. Αντίθετα, οι αναστολείς (antagomiRs) χρησιμοποιούνται όταν υπάρχει παθολογική υπερέκφραση.

Τύπος ncRNA	Στόχος	Μηχανισμός	Παράδειγμα στην Αναπαραγωγή	Πηγή
miR-646 Mimic	Αποκατάσταση λειτουργίας	Αναστολή IGF-1, μείωση παθολογικού πολλαπλασιασμού GCs	Στόχευση της οδού IGF-1 στο PCOS	(Sun et al., 2021)
LncRNA NEAT1	Ρύθμιση GCs	Sponging miR-381 για ρύθμιση του άξονα IGF1	Υπερέκφραση στο PCOS προάγει τον πολλαπλασιασμό	(Zhang et al., 2021)
LncRNA MALAT1	Ομοιόσταση GCs	Ρύθμιση σήμανσης TGF-β και απόπτωσης	Μειωμένη έκφραση στο PCOS συνδέεται με δυσλειτουργία	(Zhang et al., 2021)
Anti-miRNA	Καταστολή	Δέσμευση υπερεκφρασμένων miRNAs (π.χ. miR-21)	Αντιμετώπιση ινωτικών αλλοιώσεων	(Sun et al., 2021)

Η μελλοντική έρευνα επικεντρώνεται στη βελτίωση της εξειδίκευσης μέσω της χρήσης χημικών τροποποιήσεων, όπως η 2'-Ο-μεθυλίωση και τα LNA (Locked Nucleic Acids), που αυξάνουν τη σταθερότητα έναντι των ριβονουκλεασών.

Προκλήσεις στη σταθερότητα και τη στοχευμένη μεταφορά

Τα γυμνά RNA μόρια είναι ασταθή στην κυκλοφορία. Η επόμενη γενιά θεραπευτικών συστημάτων εστιάζει στην ανάπτυξη εξελιγμένων νανοφορέων, όπως τα Λιπιδικά Νανοσωματίδια (LNPs) και τα Εξωσώματα (Exosomes). Τα τελευταία, ως φυσικοί φορείς στο θυλακικό υγρό, προσφέρουν χαμηλή ανοσογονικότητα και υψηλή ικανότητα διείσδυσης.

Τεχνητή νοημοσύνη και ανακάλυψη βιοδεικτών: Από τα δεδομένα στην κλινική απόφαση

Η Τεχνητή Νοημοσύνη (AI) προσφέρει τη δυνατότητα ενοποίησης ετερογενών δεδομένων για την ανακάλυψη βιοδεικτών με υψηλή ακρίβεια.

Αυτοματοποιημένη διάγνωση και ταξινόμηση φαινοτύπων

Στο PCOS, μοντέλα μηχανικής μάθησης (π.χ. Random Forest) επιτυγχάνουν διαγνωστική ακρίβεια έως και 92.5% (Vikas et al., 2021). Η εφαρμογή της Βαθιάς Μάθησης (Deep Learning) σε υπερηχογραφικές εικόνες επιτρέπει την αυτοματοποιημένη αναγνώριση της μορφολογίας των πολυκυστικών ωοθηκών με ακρίβεια άνω του 95%.

Μη επεμβατικοί βιοδείκτες στην ανδρική υπογονιμότητα

Τα miRNAs στο σπερματικό πλάσμα φαίνονται ως ανώτεροι δείκτες (Wang et al., 2021). Συγκεκριμένα:

- Το miR-139-5p παρουσιάζει υψηλή διαγνωστική ικανότητα για την ασθενοζωοσπερμία με τιμή AUC 0.880 (Wang et al., 2021).
- Το miR-942-5p συνδέεται με την ολιγοζωοσπερμία, επιτυγχάνοντας AUC 0.830.

Ολοκλήρωση πολυ-ωμικών δεδομένων: Μια ολιστική προοπτική της αναπαραγωγής

Η μελλοντική έρευνα στρέφεται στην ολοκλήρωση πολυ-ωμικών δεδομένων (multi-omics integration) για τη δημιουργία μιας συνολικής εικόνας της αναπαραγωγικής υγείας.

Υπολογιστικά πλαίσια και στρατηγικές ολοκλήρωσης

Για την αντιμετώπιση της υψηλής διαστασιμότητας των δεδομένων, χρησιμοποιούνται εργαλεία όπως το MOFA+ (Multi-Omics Factor Analysis), το οποίο επιτρέπει την ενσωμάτωση γενομικών και μεταβολωμικών δεδομένων για τη διαστρωμάτωση των ασθενών (Argelaguet et al., 2020).

Η Κάθετη Ολοκλήρωση (Vertical Integration) δείχνει σημαντικά ρυθμιστικά δίκτυα ncRNA-mRNA που διέπουν την αναπαραγωγική επιτυχία.

Πόροι για την εμβρυϊκή ανάπτυξη και την POI

Η δημιουργία ενοποιημένων πόρων, όπως ο Human Developmental Cell Atlas (HDCA), επιτρέπει την κατανόηση της επικοινωνίας μεταξύ εμβρύου και ενδομητρίου σε επίπεδο μεμονωμένων κυττάρων. Στην περίπτωση της Πρόωρης Ωοθηκικής Ανεπάρκειας (POI), η πολυ-ωμική προσέγγιση βοηθά στην ανάπτυξη «ρολογιών γήρανσης» (aging clocks) για τον προσδιορισμό της βιολογικής ηλικίας της ωοθήκης, με τη μελέτη lncRNAs όπως το MALAT1 και το NEAT1 να προσφέρει νέες διαγνωστικές προοπτικές (Zhang et al., 2021).

Συμπεράσματα και μελλοντικές προοπτικές

Η ενσωμάτωση των θεραπειών RNA, της AI και των πολυ-ωμικών δεδομένων υπόσχεται να μεταμορφώσει την αναπαραγωγική ιατρική σε μια επιστήμη ακριβείας. Οι κυριότερες μελλοντικές κατευθύνσεις περιλαμβάνουν την κλινική επικύρωση της ασφάλειας των miRNA mimics και τη δημιουργία ηθικών πλαισίων για τη χρήση της AI στη γενετική διάγνωση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εξέτασε τον κομβικό ρόλο των μη-κωδικοποιών RNA (ncRNAs) στην ανθρώπινη αναπαραγωγή και τη σύνδεσή τους με ενδοκρινικές διαταραχές. Μέσα από τη σύνθεση των δεδομένων, προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Απαντήσεις στα Ερευνητικά Ερωτήματα
 - Ρύθμιση Γαμετογένεσης: Τα miRNAs (ιδιαίτερα οι οικογένειες miR-34/449) αποτελούν απαραίτητους ρυθμιστές της σπερματογένεσης (Salas-Huetos et al., 2020). Παράλληλα, τα piRNAs λειτουργούν ως προστάτες της γονιδιωματικής ακεραιότητας, καθώς η δυσλειτουργία τους οδηγεί σε αποτυχία καταστολής των μεταθετών στοιχείων (transposons), προκαλώντας ανδρική υπογονιμότητα (Stallmeyer et al., 2024).
 - Εμφύτευση και Κύηση: Τα miRNAs (όπως το miR-29) συντονίζουν τη δεκτικότητα του ενδομητρίου (Liang et al., 2017). Διαταραχές στην έκφραση του lncRNA H19 επηρεάζουν



την εισβολή της τροφοβλάστης, συμβάλλοντας στην παθογένεια της προεκλαμψίας μέσω του μονοπατιού PI3K/AKT/mTOR (Xu et al., 2018).

- Ενδοκρινικές Διαταραχές: Στο PCOS, η απορρύθμιση των miR-93 και miR-320, σε συνδυασμό με τη δράση των lncRNAs (H19, GAS5, SRA), επηρεάζει τον μεταβολισμό και τη θυλακιογένεση (Mu et al., 2021). Επιπλέον, μεταλλάξεις στο γονίδιο DICER1 διαταράσσουν τη βιογένεση των ncRNAs, αυξάνοντας τον κίνδυνο ωθηκικών όγκων και υπογονιμότητας (De Paolis et al., 2021).

2. Κεντρικά Ευρήματα και Δομή Δικτύων

- Μηχανισμός ceRNA: Τα circRNAs λειτουργούν ως “μοριακοί σπόγγοι” (miRNA sponges), ρυθμίζοντας βασικά μονοπάτια όπως το Wnt/ β -catenin. Η απορρύθμισή τους συσχετίζεται άμεσα με την ενδομητρίωση και τις αποβολές (Li et al., 2023).
- Διαγνωστική Αξία: Τα προφίλ έκφρασης των miRNAs στο αίμα και στο θυλακικό υγρό παρουσιάζονται ως ισχυροί βιοδείκτες για την εκτίμηση του ωθηκικού αποθέματος και της ποιότητας των ωοκυττάρων σε περιπτώσεις POI και PCOS (Chico-Sordo et al., 2024).

3. Μελλοντικές Προοπτικές

Η μελλοντική έρευνα οφείλει να εστιάσει στη λειτουργική επαλήθευση των δικτύων ncRNA σε ανθρώπινα μοντέλα. Παρόλο που οι RNA-θεραπείες (miRNA mimics/antagomirs) παραμένουν σε πειραματικό στάδιο, η ενσωμάτωση της RNA-επιγενετικής στην κλινική ενδοκρινολογία υπόσχεται νέες δυνατότητες εξατομικευμένης διάγνωσης και στοχευμένης αποκατάστασης της αναπαραγωγικής υγείας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΣΧΕΔΙΟ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

Μάθημα:	Βιολογία Γ΄ Λυκείου / Κατεύθυνση Θετικών Σπουδών
Ενότητα:	Μοριακή Βιολογία — Γονιδιακή Έκφραση και Ρύθμιση
Τάξη / Ηλικία:	Γ΄ Λυκείου (17–18 ετών)
Διάρκεια:	2 διδακτικές ώρες (90 λεπτά)
Εκπαιδευτικός:	Αγλαΐα Μιχαλάκη
Προαπαιτούμενα:	Βασικές γνώσεις DNA, RNA, μεταγραφή, μετάφραση (ύλη Β΄–Γ΄ Λυκείου)

10.1 Διδακτικοί Στόχοι

Γνωστικοί στόχοι

- Να κατανοήσουν οι μαθητές ότι μόνο το ~2% του ανθρώπινου DNA κωδικοποιεί πρωτεΐνες, ενώ το υπόλοιπο παράγει μη-κωδικά RNA (ncRNAs) με κρίσιμο ρυθμιστικό ρόλο.
- Να περιγράψουν τις τέσσερις κύριες κατηγορίες ncRNAs (miRNA, lncRNA, circRNA, piRNA) και τον βασικό μηχανισμό δράσης τους.
- Να συνδέσουν τη δράση των ncRNAs με τη ρύθμιση της ανθρώπινης αναπαραγωγής (γαμετογένεση, ωορρηξία, εμφύτευση εμβρύου).
- Να αναγνωρίσουν ότι η δυσλειτουργία ncRNAs συνδέεται με αναπαραγωγικές διαταραχές (π.χ. Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών, υπογονιμότητα).

Δεξιότητες

- Ερμηνεία απλοποιημένων επιστημονικών σχημάτων και διαγραμμάτων.

- Κριτική σκέψη: αξιολόγηση πώς νέες ανακαλύψεις αλλάζουν τη θεώρηση του «σκουπιδο-DNA».
- Συνεργατική μάθηση μέσω ομαδικής δραστηριότητας.

Στάσεις και αξίες

- Εκτίμηση της πολυπλοκότητας του ανθρώπινου γονιδιώματος και σεβασμός προς την επιστημονική έρευνα.
- Ευαισθητοποίηση σχετικά με τις βιοηθικές πτυχές της γενετικής διαγνωστικής στην αναπαραγωγή.

10.2 Επιστημονικό Υπόβαθρο (για τον/την Εκπαιδευτικό)

Μέχρι πρόσφατα, η βιολογία επικεντρωνόταν στο λεγόμενο «κεντρικό δόγμα»: DNA → RNA → Πρωτεΐνη. Ωστόσο, η αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε ένα παράδοξο: μόνο το ~2% του DNA μας κωδικοποιεί πρωτεΐνες. Το υπόλοιπο 98%, που κάποτε αποκαλούνταν «*junk DNA*» (σκουπιδο-DNA), παράγει χιλιάδες μη-κωδικοποιούντα RNA (ncRNAs) τα οποία λειτουργούν ως ρυθμιστές-κλειδιά της γονιδιακής έκφρασης.

Στο πλαίσιο της ανθρώπινης αναπαραγωγής, αυτά τα μόρια ελέγχουν βασικές διεργασίες: τη δημιουργία ωαρίων και σπερματοζωαρίων (γαμετογένεση), τον μηνιαίο κύκλο των ωοθηκών, την εμφύτευση του εμβρύου στη μήτρα, καθώς και τη σωστή λειτουργία του πλακούντα. Όταν τα ncRNAs δεν λειτουργούν σωστά, μπορεί να προκληθούν παθήσεις όπως το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), η Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (POI) ή η ανδρική υπογονιμότητα.

Ιδιαίτερα ελπιδοφόρα είναι η δυνατότητα ανίχνευσης ncRNAs στο αίμα (η λεγόμενη «υγρή βιοψία»), η οποία θα μπορούσε στο μέλλον να αντικαταστήσει επεμβατικές διαγνωστικές μεθόδους, ανοίγοντας τον δρόμο για εξατομικευμένη ιατρική στην αναπαραγωγή.

10.3 Πορεία Μαθήματος

Φάση Α': Αφόρμηση και Πρόκληση Ενδιαφέροντος (15 λεπτά)

Ερώτηση-πρόκληση: «Αν μόνο το 2% του DNA μας φτιάχνει πρωτεΐνες, τι κάνει το υπόλοιπο 98%;»

Ο εκπαιδευτικός ξεκινά γράφοντας στον πίνακα: «2% = πρωτεΐνες. 98% = ???». Ζητά από τους μαθητές να σκεφτούν σε ζευγάρια (*Think-Pair-Share*) τι πιστεύουν ότι κάνει αυτό το 98%. Μετά από 2-3 λεπτά, ο εκπαιδευτικός αποκαλύπτει ότι πολύ μεγάλο μέρος αυτού του DNA παράγει μη-κωδικά RNA — μόρια που δεν γίνονται πρωτεΐνες αλλά λειτουργούν ως «διακόπτες» και «ρυθμιστές», ελέγχοντας ποια γονίδια θα ενεργοποιηθούν και πότε.

Προβάλλεται μια απλή αναλογία: «Φανταστείτε ότι τα γονίδια είναι σαν τα φώτα ενός σπιτιού. Τα ncRNAs είναι οι διακόπτες — αποφασίζουν ποια φώτα θα ανάψουν, πόσο φωτεινά, και πότε θα σβήσουν.»

Φάση Β΄: Παρουσίαση Νέας Γνώσης (30 λεπτά)

Ο εκπαιδευτικός παρουσιάζει με τη βοήθεια παρουσίασης (ή πίνακα) τις τέσσερις κατηγορίες ncRNAs χρησιμοποιώντας εκλαϊκευμένες αναλογίες:

Τύπος ncRNA	Αναλογία	Τι κάνει;	Παράδειγμα
miRNA	«Ψαλίδι» που κόβει mRNA	Σιγεί (σβήνει) συγκεκριμένα γονίδια, καταστρέφοντας το μήνυμά τους	miR-21: ρυθμίζει την ανάπτυξη ωοθυλακίων στις ωοθήκες
lncRNA	«Σκηνοθέτης» στον πυρήνα	Καθοδηγεί πρωτεΐνες στο σωστό σημείο του DNA για να ενεργοποιήσουν/απενεργοποιήσουν γονίδια	NEAT1: επηρεάζει τη δεκτικότητα της μήτρας για εμφύτευση εμβρύου

circRNA	«Σφουγγάρι» που απορροφά miRNAs	Δεσμεύει miRNAs και τα εμποδίζει να σβήσουν γονίδια — έτσι τα γονίδια παραμένουν ενεργά	circRNA CDR1as: ρυθμίζει εκατοντάδες γονίδια δεσμεύοντας το miR-7
piRNA	«Φρουρός» του DNA	Προστατεύει το DNA στα σπερματοζώαρια από «παράσιτα» (μεταθετά στοιχεία) που θα μπορούσαν να το καταστρέψουν	piRNAs στη σπερματογένεση: εξασφαλίζουν γονιδιωματική ακεραιότητα

Στη συνέχεια, ο εκπαιδευτικός εξηγεί πώς η δυσλειτουργία αυτών των μορίων συνδέεται με παθήσεις. Παρουσιάζεται ένα απλοποιημένο παράδειγμα: στο Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), που επηρεάζει μία στις δέκα γυναίκες, ένα συγκεκριμένο miRNA (miR-93) υπερεκφράζεται και διαταράσσει τη σηματοδότηση της ινσουλίνης, δημιουργώντας φαύλο κύκλο υπερανδρογοναιμίας.

Τέλος, παρουσιάζεται η έννοια της «υγρής βιοψίας»: επιστήμονες μπορούν να ανιχνεύσουν ncRNAs σε μια απλή εξέταση αίματος, χωρίς επεμβατικές διαδικασίες. Αυτό θα μπορούσε στο μέλλον να βοηθήσει στη διάγνωση αναπαραγωγικών προβλημάτων ή στην πρόβλεψη αποτελεσμάτων εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF).

Φάση Γ': Ομαδική Δραστηριότητα (25 λεπτά)

Δραστηριότητα: «Ο Κόσμος των ncRNAs — Ομαδική Αποστολή»

Οι μαθητές χωρίζονται σε 4 ομάδες. Κάθε ομάδα αναλαμβάνει έναν τύπο ncRNA και λαμβάνει μια κάρτα με απλοποιημένες πληροφορίες. Αποστολή κάθε ομάδας:

1. Να σχεδιάσει ένα απλό διάγραμμα (σε χαρτόνι ή ψηφιακά) που δείχνει πώς δρα το ncRNA τους.



2. Να βρει μια δική τους αναλογία από την καθημερινή ζωή (π.χ. «το miRNA είναι σαν το autocorrect του κινητού — διορθώνει λάθη πριν σταλεί το μήνυμα»).
3. Να παρουσιάσει στην τάξη σε 3 λεπτά τι «κάνει» το ncRNA τους και γιατί είναι σημαντικό για την αναπαραγωγή.

Μετά τις παρουσιάσεις, ο εκπαιδευτικός συνθέτει: *«Παρατηρήστε ότι κανένα ncRNA δεν δρα μόνο του — συνεργάζονται σε ένα δίκτυο, σαν τα μέλη μιας ορχήστρας.»*

Φάση Δ': Ανακεφαλαίωση και Αξιολόγηση (20 λεπτά)

A. Σύντομο quiz (10 λεπτά) — Σωστό/Λάθος:

1. Τα ncRNAs μεταφράζονται σε πρωτεΐνες. (Λ)
2. Τα miRNAs μπορούν να «σιγήσουν» γονίδια καταστρέφοντας το mRNA-στόχο τους. (Σ)
3. Τα circRNAs λέγονται «μοριακά σφουγγάρια» γιατί απορροφούν νερό. (Λ)
4. Τα piRNAs προστατεύουν τη γενετική ακεραιότητα κατά τη σπερματογένεση. (Σ)
5. Η «υγρή βιοψία» σημαίνει ότι μπορούμε να ανιχνεύσουμε ncRNAs σε δείγμα αίματος. (Σ)

B. Ερώτηση σύνθεσης (10 λεπτά):

«Ένα ζευγάρι αντιμετωπίζει δυσκολίες τεκνοποίησης. Ο γιατρός προτείνει μια εξέταση αίματος που μετρά συγκεκριμένα miRNAs. Με βάση όσα μάθατε, εξηγήστε σε 5–7 γραμμές πώς μια τέτοια εξέταση θα μπορούσε να βοηθήσει στη διάγνωση και γιατί θεωρείται καινοτόμα.»

4. Διδακτικά Μέσα και Υλικά

- Βιντεοπροβολέας / διαδραστικός πίνακας για παρουσίαση
- Χαρτόνια, μαρκαδόροι, αυτοκόλλητα χρωματιστά χαρτάκια (για ομαδική δραστηριότητα)
- Εκτυπωμένες κάρτες με πληροφορίες για κάθε τύπο ncRNA (1 ανά ομάδα)
- Φύλλο εργασίας με το quiz Σωστό/Λάθος και την ερώτηση σύνθεσης
- (Προαιρετικά) Σύντομο βίντεο για τη βιογένεση των miRNAs (2–3 λεπτά, π.χ. από Khan Academy ή Nature Video)



5. Προεκτάσεις και Διαθεματικές Συνδέσεις

- **Χημεία:** Δομή νουκλεοτιδίων, υδρογονικοί δεσμοί στη συμπληρωματικότητα βάσεων RNA–RNA.
- **Βιοηθική:** Συζήτηση: «Πρέπει ένα γενετικό τεστ αίματος να αποκαλύπτει την αναπαραγωγική ικανότητα ενός ατόμου; Ποια ηθικά ζητήματα εγείρει;»
- **Πληροφορική / Βιοπληροφορική:** Εισαγωγή στις βάσεις δεδομένων miRBase και PubMed — πώς οι επιστήμονες αναζητούν πληροφορίες για ncRNAs.
- **Ιατρική / Κοινωνία:** Η υπογονιμότητα ως πρόβλημα δημόσιας υγείας (17,5% παγκοσμίως) — πώς η μοριακή έρευνα μπορεί να δώσει λύσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed, K., LaPierre, M. P., Gasser, E., Denzler, R., Yang, Y., & Stoffel, M. (2017). Loss of microRNA-7a2 induces hypogonadotropic hypogonadism and infertility. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(3), 1061-1074. <https://doi.org/10.1172/JCI90031>
- Altmäe, S., Koel, M., Võsa, U., Adler, P., Suhorutšenko, M., Laisk-Podar, T., ... & Salumets, A. (2017). Meta-signature of human endometrial receptivity: A meta-analysis and validation study of transcriptomic biomarkers. *Scientific Reports*, 7(1), 10077. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10098-3>
- Anguera, M. C., Ma, W., Clift, D., Namekawa, S., Kelleher, R. J., & Lee, J. T. (2011). Tsx produces a long noncoding RNA and has general functions in the germline, stem cells, and brain. *PLoS Genetics*, 7(9), e1002248. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002248>
- Anton, L., DeVine, A., Polyak, E., Olarerin-George, A., Brown, A. G., Falk, M. J., & Elovitz, M. A. (2019). HIF-1 α stabilization increases miR-210 eliciting first trimester extravillous trophoblast mitochondrial dysfunction. *Frontiers in Physiology*, 10, 699. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00699>
- Argelaguet, R., Arnol, D., Bredikhin, D., Deloro, Y., Velten, B., Marioni, J. C., & Stegle, O. (2020). MOFA+: a statistical framework for multi-omics integration and differential factor analysis. *Genome Biology*, 21(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02015-1>
- Arun, G., Akhade, V. S., Donakonda, S., & Rao, M. R. (2012). mrhl RNA, a long noncoding RNA, negatively regulates Wnt signaling through its protein partner Ddx5/p68 in mouse spermatogonial cells. *Molecular and Cellular Biology*, 32(15), 3140-3152. <https://doi.org/10.1128/MCB.00006-12>
- Asl, A. J., Sharifi, M., Dashti, A., & Reza Dashti, G. (2023). Relationship between long non-coding RNA MALAT1 and HOTAIR expression with sperm parameters, DNA and malondialdehyde levels in male infertility. *Tissue and Cell*, 85, 102248. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2023.102248>

Balaguer, N., Moreno-Moya, J. M., Herrero, M., Martínez-Conejero, J. A., Simón, C., & Vilella, F. (2018). Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C1 may control miR-30d levels in endometrial exosomes affecting early embryo implantation. *Molecular Human Reproduction*, 24(8), 411-425. <https://doi.org/10.1093/molehr/gay026>

Bartel, D. P. (2018). Metazoan microRNAs. *Cell*, 173(1), 20-51. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.006>

Berkhout, R., Keijser, R., Repping, S., & Hamer, G. (2020). High-quality human preimplantation embryos stimulate endometrial stromal cell migration via secretion of microRNA hsa-miR-320a. *Human Reproduction*, 35(8), 1797-1807. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa149>

Bolumar, D., Moncayo-Arlandi, J., Simon, C., Vilella, F., et al. (2023). Vertical transmission of maternal DNA through extracellular vesicles associates with altered embryo bioenergetics during the periconception period. *eLife*, 12, e88008. <https://doi.org/10.7554/eLife.88008>

Borji, A., Aram, C., Ziyadloo, F., Zadeh, M. R., Rouzbahani, K. A., Kazemi, M., Barancheshmeh, M., Alishvandi, A., & Daraei, A. (2025). Gene regulation by non-coding RNAs in infertility: A mechanistic review. *Journal of Ovarian Research*, 18(1), 265. <https://doi.org/10.1186/s13048-025-01862-5>

Bustin, S. A., Ruijter, J. M., van den Hoff, M. J., Kubista, M., Pfaffl, M. W., et al. (2025). MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines. *Clinical Chemistry*, 71(6), 634-651. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf043>

Butler, A. E., Ramachandran, V., Cunningham, T. K., David, R., Gooderham, N. J., Benurwar, M., Dargham, S. R., Hayat, S., Sathyapalan, T., Najafi-Shoushtari, S. H., & Atkin, S. L. (2020). Increased microRNA levels in women with polycystic ovarian syndrome but without insulin resistance: A pilot prospective study. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 571357. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.571357>

Cantile, M., Di Bonito, M., Tracey De Bellis, M., & Botti, G. (2021). Functional interaction among lncRNA HOTAIR and microRNAs in cancer and other human diseases. *Cancers*, 13(3), 570. <https://doi.org/10.3390/cancers13030570>

Carletti, M. Z., Fiedler, S. D., & Christenson, L. K. (2010). MicroRNA 21 blocks apoptosis in mouse periovulatory granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 83(2), 286-295. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.081448>

Cerillo, A., Marrone, A., Scutiero, G., Iannone, P., Nappi, L., & Greco, P. (2025). The role of lncRNAs in complicated pregnancy: A systematic review. *Genes*, 16(8), 959. <https://doi.org/10.3390/genes16080959>

Chandel, D. S., Tom, W. A., Jiang, C., Krzyzanowski, G., Fernando, N., Olou, A., & Fernando, M. R. (2024). Preanalytical considerations for clinical assays of circulating human miRNA-451a, miRNA-423-5p and miRNA-199a-3p for diagnostic purposes. *PLOS One*, 19(5), e0303598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303598>

Chang, S. C., Chen, S. Y., Chen, P. H., ... & Chen, H. W. (2023). Establishment of a prediction model to determine endometrial receptivity status via NGS. *Biomedicines*, 11(11), 3056. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11113056>

Che, Q., Liu, M., Xu, J., Liu, Y., Cao, X., Dong, X., & Liu, S. (2019). Characterization of circular RNA expression profiles in cumulus cells from patients with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 111(6), 1243-1251.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.023>

Che, Q., Liu, M., Zhang, D., Lu, Y., Xu, J., Lu, X., Cao, X., Liu, Y., Dong, X., & Liu, S. (2020). Long noncoding RNA HUPCOS promotes follicular fluid androgen excess in PCOS patients via aromatase inhibition. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(4), 1086-1097. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa060>

Chen, L. L., & Kim, V. N. (2024). Small and long non-coding RNAs: Past, present, and future. *Cell*, 187(23), 6451-6485. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.10.024>

Chen, Y. H., Heneidi, S., Lee, J. M., Layman, L. C., Stepp, D. W., Gamboa, G. M., Chen, B. S., Chazenbalk, G., & Azziz, R. (2013). miRNA-93 inhibits GLUT4 and is overexpressed in adipose tissue of polycystic ovary syndrome patients and women with insulin resistance. *Diabetes*, 62(7), 2278-2286. <https://doi.org/10.2337/db12-0963>

Chen, Y., Sun, X., Xia, X., Chen, K., & Zeng, F. (2025). The pathogenesis, therapeutic targets and drugs of polycystic ovary syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 16, 1722649. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1722649>

Chen, Y., Zhang, X., An, Y., Liu, B., & Lu, M. (2020). LncRNA HCP5 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis via miR-27a-3p/IGF-1 axis in human granulosa-like tumor cell line KGN. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 503, 110697. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110697>

Cheng, Y., Liu, G., Wang, L., Zhang, S., et al. (2019). miR-145-5p inhibits endometrial receptivity by targeting HOXA10. *European Journal of Pharmacology*, 847, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.011>

Chico-Sordo, L., Campioli, E., Duijf, P. H. G., & Martinez, E. D. (2024). MicroRNAs as biomarkers and therapeutic targets in female infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), 12979. <https://doi.org/10.3390/ijms252312979>

Chodurska, B., & Kunej, T. (2025). Long non-coding RNAs in humans: Classification, genomic organization and function. *Noncoding RNA Research*, 11, 313-327. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2025.01.004>

Choi, M. R., Chang, H. J., Heo, J. H., Yum, S. H., Jo, E., Kim, M., & Lee, S. R. (2024). Expression Profiling of Coding and Noncoding RNAs in the Endometrium of Patients with Endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10581. <https://doi.org/10.3390/ijms251910581>

Cirillo, F., Catellani, C., Lazzeroni, P., Sartori, C., Nicoli, A., Amarri, S., La Sala, G. B., & Street, M. E. (2019). MiRNAs regulating insulin sensitivity are dysregulated in polycystic ovary syndrome

(PCOS) ovaries and are associated with markers of inflammation and insulin sensitivity. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 879. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00879>

Csehely, S., Németh, K., Kővári, B., ... & Tar, A. (2025). Changing etiological spectrum of premature ovarian insufficiency over the past decades: A comparative analysis of two cohorts from a single center. *Diagnostics*, 15(13), 1724. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15131724>

De Paolis, E., Papi, L., Concolino, P., De Bonis, M., & Minucci, A. (2021). Spectrum of DICER1 germline pathogenic variants in ovarian Sertoli-Leydig cell tumor. *Journal of Clinical Medicine*, 10(9), 1845. <https://doi.org/10.3390/jcm10091845>

Deng, L., Chen, Q., Xie, J., Wei, W., & Hui, H. (2020). circPUM1 promotes polycystic ovary syndrome progression by sponging to miR-760. *Gene*, 754, 144903. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144903>

Dexheimer, P. J., & Cochella, L. (2020). MicroRNAs: From mechanism to organism. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 409. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00409>

Ding, S., & Wang, P. (2025). The life of microRNAs: Biogenesis, function and decay in cancer. *Biomolecules*, 15(10), 1393. <https://doi.org/10.3390/biom15101393>

Dong, L., Wu, H., Qi, F., Chen, W., Xu, Y., Li, M., Wang, Y., Yan, R., & Cai, P. (2025). LncRNA NEAT1 participates in diminished ovarian reserve by affecting granulosa cell apoptosis and estradiol synthesis via the miR-204-5p/ESR1 axis. *Journal of Ovarian Research*, 18(1), 102. <https://doi.org/10.1186/s13048-025-01683-6>

Dunaif, A. (1997). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: Mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine Reviews*, 18(6), 774-800. <https://doi.org/10.1210/edrv.18.6.0318>

Esmailvand, M., & Nasr-Esfahani, M. H. (2022). MiRNAs secreted by human blastocysts could be potential gene expression regulators during implantation. *Cell Journal (Yakhteh)*, 24(12), 738-746. <https://doi.org/10.22074/cellj.2022.8122>

Fabová, Z., Loncová, B., Harrath, A. H., Feriani, A., & Sirotkin, A. V. (2025). Exploring the epigenetic role of the circular RNA ciR-01114 in porcine ovarian cell functions. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-11126-6>

Fabová, Z., Loncová, B., Harrath, A. H., Feriani, A., & Sirotkin, A. V. (2026). Circular RNA ciR-02852: A novel physiological inhibitor of porcine ovarian granulosa cell functions. *Molecular Biology Reports*, 53(1), 375. <https://doi.org/10.1007/s11033-026-11539-x>

Feng, J., Wu, Q., Liang, Y., Liang, Y., & Bin, Q. (2025). Epidemiological characteristics of infertility, 1990-2021, and 15-year forecasts: an analysis based on the global burden of disease study 2021. *Reproductive Health*, 22(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s12978-025-01966-7>

Feng, R., Sang, Q., Kuang, Y., Sun, X., Yan, Z., Zhang, S., Shi, L., Zhao, G., Jin, L., He, L., & Wang, L. (2015). MiRNA-320 in the human follicular fluid is associated with embryo quality in vivo and affects mouse embryonic development in vitro. *Scientific Reports*, 5, 8689. <https://doi.org/10.1038/srep08689>

Ferrer, J., & Dimitrova, N. (2024). Transcription regulation by long non-coding RNAs: Mechanisms and disease relevance. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(5), 396-415. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00694-9>

Fiedler, S. D., Carletti, M. Z., Hong, X., & Christenson, L. K. (2008). Hormonal regulation of microRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 79(5), 1030-1037. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.070532>

Garaffo, G., Conte, D., Provero, P., Tomaiuolo, D., Luo, Z., Merlo, G. R., Fasolo, V., et al. (2015). The Dlx5 and Foxg1 transcription factors, linked via miRNA-9 and miR-200, are required for the genesis and position of GnRH neurons. *Human Molecular Genetics*, 24(11), 3042-3054. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv056>

Geng, J., Cui, C., Yin, Y., Zhao, Y., & Zhang, C. (2022). LncRNA NEAT1 affects endometrial receptivity by regulating HOXA10 promoter activity. *Cell Cycle*, 21(18), 1932-1944. <https://doi.org/10.1080/15384101.2022.2075198>

- Ghazal, S., McKinnon, B., Zhou, J., Mueller, M., Men, Y., Yang, L., et al. (2015). H19 lncRNA alters stromal cell growth via IGF signaling in the endometrium of women with endometriosis. *EMBO Molecular Medicine*, 7(8), 996-1003. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505245>
- Gou, L. T., Dai, P., Yang, J. H., Xue, Y., Hu, Y. P., Zhou, Y., et al. (2014). Pachytene piRNAs instruct massive mRNA elimination during late spermiogenesis. *Cell Research*, 24(6), 680-700. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.41>
- Gou, L. T., Kang, J. Y., Dai, P., Wang, X., Li, F., Zhao, S., Zhang, M., Hua, M. M., Lu, Y., Zhu, Y., Li, Z., Chen, H., Wu, L. G., Li, D., Fu, X. D., Li, J., Shi, H. J., & Liu, M. F. (2017). Ubiquitination-deficient mutations in human Piwi cause male infertility by impairing histone-to-protamine exchange during spermiogenesis. *Cell*, 169(6), 1090-1104.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.034>
- Hasuwa, H., Iwasaki, Y. W., Au Yeung, W. K., Ishino, K., Masuda, H., Sasaki, H., & Siomi, H. (2021). Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters. *Nature Cell Biology*, 23(9), 1002-1012. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00745-3>
- Hayder, H., O'Brien, J., Nadeem, U., & Peng, C. (2018). MicroRNAs: Crucial regulators of placental development. *Reproduction*, 155(6), R259-R271. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0603>
- He, F., Liu, Y., Li, T., Ma, Q., Yongmei, Z., He, P., & Xiong, C. (2022). MicroRNA-146 attenuates lipopolysaccharide induced ovarian dysfunction by inhibiting the TLR4/NF-κB signaling pathway. *Bioengineered*, 13(5), 11611-11623. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2070584>
- He, H., Ning, P., Chen, X., & Lin, J. (2026). Knockdown of miR-21-5P targets and regulates PDCD4-induced apoptosis in ovarian granulosa cells and ameliorates insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *PLoS One*, 21(3), e0343735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0343735>
- Hong, Z., Huang, S., Li, L., Gao, Y., Ma, B., Fan, Q., Zhang, Y., & Wang, M. (2025). Cracking the code: How piRNA pathway shapes spermatogenesis and combats male infertility. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 13, 1657744. <https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1657744>
- Hromadnikova, I., Dvorakova, L., Kotlabova, K., & Krofta, L. (2019). The prediction of gestational hypertension, preeclampsia and fetal growth restriction via the first trimester screening of

plasma exosomal C19MC microRNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 2972. <https://doi.org/10.3390/ijms20122972>

Hromadnikova, I., Kotlabova, K., Ivankova, K., & Krofta, L. (2017). First trimester screening of circulating C19MC microRNAs and the evaluation of their potential to predict the onset of preeclampsia and IUGR. *PLOS ONE*, 12(2), e0171756. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171756>

Hu, S., Wang, H., Wang, J., et al. (2022). Circular RNA circLDLR facilitates granulosa cell proliferation and inhibits apoptosis in polycystic ovary syndrome by regulating miR-1294/CYP19A1 axis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 20(1), 126. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01004-9>

Huang, P., Chen, S., Cai, J., Jiang, C., Liu, B., Fu, Y., & Lin, D. (2025). Circular RNA expression profiling and the potential role of hsa_circ_0005379 in decreased ovarian reserve. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 30(6), 224. <https://doi.org/10.3892/etm.2025.12974>

Huang, W., Chen, A. C., Ng, E. H., Yeung, W. S., & Lee, Y. L. (2023). Non-coding RNAs as biomarkers for embryo quality and pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5751. <https://doi.org/10.3390/ijms24065751>

Jenabi, M., Khodarahmi, P., Tafvizi, F., & Bostanabad, S. Z. (2023). Evaluation of the potential of miR-21 as a diagnostic marker for oocyte maturity and embryo quality in women undergoing ICSI. *Scientific Reports*, 13, 1440. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28686-x>

Jiang, L., Huang, J., Li, L., Chen, Y., Chen, X., Zhao, X., & Yang, D. (2015). MicroRNA-93 promotes ovarian granulosa cells proliferation through targeting CDKN1A in polycystic ovarian syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(5), E729-E738. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3827>

Khan, J., Lieberman, J. A., & Lockwood, C. M. (2017). Variability in, variability out: Best practice recommendations to standardize pre-analytical variables in the detection of circulating and

tissue microRNAs. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55(5), 608-621. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0471>

Kok, M. G. M., de Ronde, M. W. J., Moerland, P. D., Ruijter, J. M., Creemers, E. E., & Pinto-Sietsma, S. J. (2018). Small sample sizes in high-throughput miRNA screens: A common pitfall for the identification of miRNA biomarkers. *Biomolecular Detection and Quantification*, 15, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2017.11.002>

Kondracka, A., Jaszczuk, I., Koczkodaj, D., Kondracki, B., Frąszczak, K., Oniszczyk, A., et al. (2022). Analysis of circulating C19MC microRNA as an early marker of hypertension and preeclampsia in pregnant patients: A systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(23), 7051. <https://doi.org/10.3390/jcm11237051>

Konstantinidou, F., Placidi, M., Di Emidio, G., Stuppia, L., Tatone, C., Gatta, V., & Artini, P. G. (2023). Maternal microRNA profile changes when LH is added to the ovarian stimulation protocol: A pilot study. *Epigenomes*, 7(4), 25. <https://doi.org/10.3390/epigenomes7040025>

Kumar, S., Sisodiya, S., Rani, J., Shah, P., Yadav, C. P., Shah, K., Gupta, B., Hussain, S., & Singh, S. (2026). Circulating potential biomarkers in polycystic ovary syndrome and gynecologic cancers: Diagnostic insights from a systematic review and meta-analysis. *Journal of Ovarian Research*, 19(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13048-025-01836-7>

Leroy, E., Challal, D., Pelletier, S., Goncalves, C., Menant, A., Marchand, V., Jaszczyszyn, Y., van Dijk, E., Naquin, D., Andreani, J., et al. (2025). A bifunctional snoRNA with separable activities in guiding rRNA 2'-O-methylation and scaffolding gametogenesis effectors. *Nature Communications*, 16(1), 3250. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-58664-y>

Li, D., Chen, W., Zhang, D., Cui, Y., & He, Z. (2024). The functions and mechanisms of piRNAs in mediating mammalian spermatogenesis and their applications in reproductive medicine. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81(1), 379. <https://doi.org/10.1007/s00018-024-05399-6>

Li, D., Li, Y., Wang, X., ... & Qin, Y. (2021b). LncRNA ZNF674-AS1 regulates GC proliferation and AMPK activation via ALDOA. *Cell Death Discovery*, 7(1), 493. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00493-1>

Li, D., Wang, X., Dang, Y., Zhang, X., Zhao, S., Lu, G., Chan, W. Y., Leung, P. C. K., & Qin, Y. (2020). LncRNA GCAT1 is involved in POI by regulating p27 translation in GCs via competitive binding to PTBP1. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 23, 132-141. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.10.041>

Li, M., Cui, L., Zhang, J., Wang, S., & Du, M. (2023). The critical roles of circular RNAs in basic research and clinical application of female reproductive-related diseases. *Reproductive Sciences*, 30(5), 1421-1434. <https://doi.org/10.1007/s43032-022-01070-2>

Liang, J., Wang, S., & Wang, Z. (2017). Role of microRNAs in embryo implantation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 15(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0309-7>

Liang, X. H., Deng, W. B., Liu, Y. F., Liang, Y. X., & Fan, Z. M. (2016). Non-coding RNA LINC00473 mediates decidualization of human endometrial stromal cells in response to cAMP signaling. *Scientific Reports*, 6, 22744. <https://doi.org/10.1038/srep22744>

Liang, Y., Huang, J., Zhao, Q., Mo, H., Su, Z., Feng, S., Li, S., & Ruan, X. (2025). Global, regional, and national prevalence and trends of infertility among individuals of reproductive age (15-49 years) from 1990 to 2021, with projections to 2040. *Human Reproduction*, 40(3), 529-544. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae292>

Liu, H., Cai, X., Liu, J., Zhang, F., He, A., & Li, R. (2021). The lncRNA MEG3 promotes trophoblastic cell growth and invasiveness in preeclampsia by acting as a sponge for miR-21, which regulates BMPR2 levels. *European Journal of Histochemistry*, 65(4), 3323. <https://doi.org/10.4081/ejh.2021.3323>

Liu, H., Chu, W., Ma, J., et al. (2020). Circular RNA Expression Profiles in the Endometrium of Patients With Repeated Implantation Failure. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 582312. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.582312>

- Liu, J., Qin, Y., Liu, H., Liu, Y., Yang, Y., Ning, Y., & Ye, H. (2025). Global, regional, and national burden of female infertility and trends from 1990 to 2021 with projections to 2050 based on the GBD 2021 analysis. *Scientific Reports*, 15, 17559. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01498-x>
- Liu, T., Huang, Y., Lin, W., Cai, B., Lu, N., Chen, T., Shen, Z., Li, J., & Shi, Y. (2013). MicroRNA-122 influences the development of sperm abnormalities from human induced pluripotent stem cells by regulating TNP2 expression. *Stem Cells and Development*, 22(12), 1839-1850. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0653>
- Liu, Y. D., Li, Y., Feng, S. X., Ye, D. S., Chen, X., Zhou, X. Y., & Chen, S. L. (2017). Long Noncoding RNAs: Potential Regulators Involved in the Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology*, 158(11), 3890-3899. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00605>
- Liu, Y., Mu, H., Chen, Y., Li, K., Mei, Q., Wang, L., Tang, T., Shen, Q., Li, H., Zhang, L., Li, J., & Xiang, W. (2024). Follicular fluid-derived exosomes rejuvenate ovarian aging through miR-320a-3p-mediated FOXQ1 inhibition. *Life Medicine*, 3(1), Inae013. <https://doi.org/10.1093/lifemedi/lnae013>
- Liu, Z., Hao, C., Song, D., Zhang, N., Bao, H., & Qu, Q. (2015). Androgen receptor coregulator CTBP1-AS is associated with polycystic ovary syndrome in Chinese women: A preliminary study. *Reproductive Sciences*, 22(7), 829-837. <https://doi.org/10.1177/1933719114565037>
- Loubalova, Z., Fulka, H., Horvat, F., Pasulka, J., Malik, R., Hirose, M., Ogura, A., & Svoboda, P. (2021). Formation of spermatogonia and fertile oocytes in golden hamsters requires piRNAs. *Nature Cell Biology*, 23(9), 992-1001. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00746-2>
- Lu, X., Gao, H., Zhu, B., & Lin, G. (2021). Circular RNA circ_RANBP9 exacerbates polycystic ovary syndrome via microRNA-136-5p/XIAP axis. *Bioengineered*, 12(1), 6748-6758. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1964157>
- Luo, C., Zheng, J., Wang, L., ... & Zhao, Y. (2024). HOTAIR promotes GC proliferation by regulating miR-148b-3p/ATG14-mediated autophagy in POI. *Cell Death Discovery*, 10, 47. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-01811-z>

Martinez-Martin, N., & Magnus, D. (2020). Privacy and ethical challenges in next-generation sequencing. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*, 5(2), 95-104. <https://doi.org/10.1080/23808993.2019.1599685>

Mattick, J. S., Amaral, P. P., Carninci, P., Carpenter, S., Chang, H. Y., Chen, L. L., Chen, R., Dean, C., Dinger, M. E., Fitzgerald, K. A., et al. (2023). Long non-coding RNAs: Definitions, functions, challenges and recommendations. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 24(6), 430-447. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00566-8>

Mladenov, V., Radanova, M., Galcheva, S., & Iotova, V. (2025). Selected microRNAs as Potential Diagnostic Biomarkers in Polycystic Ovary Syndrome in Adolescent Girls. *Applied Sciences*, 15(5), 2772. <https://doi.org/10.3390/app15052772>

Mohammed, B. T., Sontakke, S. D., Ioannidis, J., Duncan, W. C., & Donadeu, F. X. (2017). The adequate corpus luteum: miR-96 promotes luteal cell survival and progesterone production. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(7), 2188-2198. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00259>

Mong, E. F., Yang, Y., Akat, K. M., Canfield, J., VanWye, J., Lockhart, J., et al. (2020). Chromosome 19 microRNA cluster enhances cell reprogramming by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition. *Scientific Reports*, 10(1), 3029. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59812-8>

Morbey, E. J., Day, F. R., Wright, D. J., Murzynowski, J. R. A., McGlacken-Byrne, S. M., Murray, A., et al. (2026). Large-scale analysis of FMR1 CGG repeat length and risk of premature ovarian insufficiency in over 92 000 women. *Human Reproduction*, Advance Article, deag061. <https://doi.org/10.1093/humrep/deag061>

Mu, L., Sun, X., Tu, M., & Zhang, D. (2021). Non-coding RNAs in polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 19(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00687-9>

Nakagawa, S., Shimada, M., Yanaka, K., Mito, M., Arai, T., Takahashi, E., Fujita, Y., Fujimori, T., Standaert, L., Marine, J. C., & Hirose, T. (2014). The lncRNA Neat1 is required for corpus luteum

formation and the establishment of pregnancy in a subpopulation of mice. *Development*, 141(23), 4618-4627. <https://doi.org/10.1242/dev.110544>

Nie, M., Yu, S., Peng, S., Fang, Y., Wang, H., & Yang, X. (2015). miR-23a and miR-27a promote human granulosa cell apoptosis by targeting SMAD5. *Biology of Reproduction*, 93(4), 98. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130690>

Nomikos, M., Kashir, J., & Lai, F. A. (2024). mRNA technology for oocyte activation: The role of PLCζ. *Biomedicines*, 12(6), 1183. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061183>

Ntzeros, K., Voros, C., Mavrogianni, D., Kathopoulos, N., Kypriotis, K., Varthaliti, A., Darlas, M., Douligeris, A., & Protopapas, A. (2025). Expression of E-CADHERIN and miR-200b in different forms of endometriosis. *Biomedicines*, 13(2), 524. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13020524>

O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>

Oliveira, J. C. C., Barbosa, E. S., Silva, N. B., Silva, T. C., Matos, A. G. M., & Pinho, J. D. (2025). Non-coding RNAs in Turner syndrome: A systematic review. *Revista Paulista de Pediatria*, 43, e2024029. <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2025/43/2024029>

Omes, C., Conti, A., Benedetti, L., Tomasoni, V., De Marchi, D., Nappi, R. E., Cusella De Angelis, M. G., & Ceccarelli, G. (2024). Expression of miRNA from spent pre-implantation embryos culture media. *Reproductive Biology*, 24(2), 100847. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2023.100847>

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

Pan, B., Toms, D., Shen, W., & Li, J. (2015). MicroRNA-378 regulates oocyte maturation via the suppression of aromatase in porcine cumulus cells. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 308(6), E525-E534. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00480.2014>

Pan, M. (2023). miR-22-3p ameliorates the symptoms of premature ovarian failure in mice by inhibiting CMKLR1 expression. *Chinese Journal of Physiology*, 66(4), 200-208. <https://doi.org/10.4103/cjop.CJOP-D-23-00004>

Panay, N., Anderson, R. A., Nappi, R. E., ... & Webber, L. (2025). ESHRE/ASRM evidence-based guideline: Premature ovarian insufficiency. *Fertility and Sterility*, 123(2), 221-236.

Peng, Y., Guo, R., Shi, B., & Li, D. (2023). The role of long non-coding RNA H19 in infertility. *Cell Death Discovery*, 9(1), 268. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01567-y>

Raja, M. H. R., Farooqui, N., Zuberi, N., Ashraf, M., Azhar, A., Baig, R., Badar, B., & Rehman, R. (2021). Endometriosis, infertility and MicroRNA's: A review. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 50(9), 102157. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2021.102157>

Roovers, E. F., Rosenkranz, D., Mahdipour, M., Han, C. T., He, N., Chuva de Sousa Lopes, S. M., van der Westerlaken, L. A., Zischler, H., Butter, F., Roelen, B. A., & Ketting, R. F. (2015). Piwi proteins and piRNAs in mammalian oocytes and early embryos. *Cell Reports*, 10(12), 2069-2082. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.02.062>

Rosenfield, R. L., & Ehrmann, D. A. (2016). The pathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS): The hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited. *Endocrine Reviews*, 37(5), 467-520. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1104>

Salas-Huetos, A., Blanco, J., Vidal, F., Mercader, J. M., Garrido, N., & Anton, E. (2020). The role of miRNAs in male human reproduction: A systematic review. *Andrology*, 8(1), 7-26. <https://doi.org/10.1111/andr.12714>

Sang, Q., Yao, Z., Wang, H., Feng, R., Wang, H., Zhao, X., Xing, Q., Jin, L., He, L., Wu, L., & Wang, L. (2013). Identification of microRNAs in human follicular fluid: Characterization of microRNAs that

govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(7), 3068-3079. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1715>

Sathyapalan, T., David, R., Gooderham, N. J., & Atkin, S. L. (2015). Increased expression of circulating miRNA-93 in women with polycystic ovary syndrome may represent a novel, non-invasive biomarker for diagnosis. *Scientific Reports*, 5, 16890. <https://doi.org/10.1038/srep16890>

Sen, A., Prizant, H., Light, A., Biswas, A., Hayes, E., Lee, H. J., Barad, D., Gleicher, N., & Hammes, S. R. (2014). Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(8), 3008-3013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318978111>

Shan, B., Huo, Y., Guo, Z., Li, Q., Pan, Z., Li, Q., & Du, X. (2024). miR-184, a downregulated ovary-elevated miRNA transcriptionally activated by SREBF2, exerts anti-apoptotic properties in ovarian granulosa cells through inducing SMAD3 expression. *Cell Death & Disease*, 15(12), 892. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-07286-1>

Shang, R., Lee, S., Senavirathne, G., & Lai, E. C. (2023). microRNAs in action: Biogenesis, function and regulation. *Nature Reviews Genetics*, 24(12), 816-833. <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00611-y>

Shi, L., Liu, S., Zhao, W., & Shi, J. (2015). miR-483-5p and miR-486-5p are down-regulated in cumulus cells of metaphase II oocytes from women with polycystic ovary syndrome. *Reproductive BioMedicine Online*, 31(4), 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.06.023>

Shi, S., Zhou, X., Li, J., Zhang, L., Hu, Y., Li, Y., Yang, G., & Chu, G. (2020). MiR-214-3p promotes proliferation and inhibits estradiol synthesis in porcine granulosa cells. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11, 94. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00500-y>

Sirotkin, A. V., Fabova, Z., Loncova, B., Harrath, A. H., Feriani, A., & Toman, R. (2024). Involvement of circular RNAs in the control of porcine ovarian cell functions: Upregulation by ciR-00596 and

downregulation by ciR-00646. *Reproductive Biology*, 24(2), 100889.
<https://doi.org/10.1016/j.repbio.2024.100889>

Stallard, C., Smith, A., & Jones, B. (2025). Current progress and future perspectives of RNA-based cancer vaccines. *Cancers*, 17(11), 1882. <https://doi.org/10.3390/cancers17111882>

Stallmeyer, B., Bühlmann, C., Stakaitis, R., Dicke, A. K., Ghieh, F., Meier, L., Zoch, A., et al. (2024). Inherited defects of piRNA biogenesis cause transposon de-repression, impaired spermatogenesis, and human male infertility. *Nature Communications*, 15(1), 6637. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50930-9>

Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(2), 96-118. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00315-9>

Sun, L., Li, Y., & Li, S. (2021). MicroRNA-646 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis of ovarian granulosa cells in polycystic ovary syndrome by targeting insulin-like growth factor 1. *Molecular Medicine Reports*, 23(5), 333. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11972>

Tariq, M., Tharwat, M., Batool, S., Quddus, A., Safdar, M., & Alharbi, Y. M. (2026). Integrated hormonal, metabolic, and epigenetic regulation of corpus luteum function: Insights into steroidogenesis, angiogenesis, and regression. *Frontiers in Endocrinology*, 17, 1812524. <https://doi.org/10.3389/fendo.2026.1812524>

Teede, H. J., Tay, C. T., Laven, J., Dokras, A., Moran, L. J., Piltonen, T. T., Costello, M. F., et al. (2023). Recommendations from the 2023 international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 120(4), 767-793. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.07.025>

Theodoro, T. R., Barreiro, R. B., Cunha, I. V., Bianco, B., Barbosa, C. P., & Christofolini, D. M. (2025). Expression profiles of miR-23a and miR-146a in the peripheral blood of women with premature ovarian insufficiency. *einstein (São Paulo)*, 23, eAO1421. https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2025AO1421

tiRNA-Gln-CTG as a potent biomarker for preeclampsia. (2025). *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 30(1), 26345.

Vikas, V., Kumar, A., & Gupta, S. (2021). A review of machine learning-based approaches for Polycystic Ovary Syndrome diagnosis. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 59(11-12), 2035-2051. <https://doi.org/10.1007/s11517-021-02434-7>

Vilella, F., Moreno-Moya, J. M., Balaguer, N., Grasso, A., Herrero, M., Martínez, S., Marcilla, A., & Simón, C. (2015). Hsa-miR-30d, secreted by the human endometrium, is taken up by the pre-implantation embryo and might modify its transcriptome. *Development*, 142(18), 3210-3221. <https://doi.org/10.1242/dev.124289>

Wang, Q., Ai, H., Li, X., Tian, H., Ning, B., Zhang, M., & La, X. (2021). Association of miRNA-145 with the occurrence and prognosis of hydrosalpinx-induced defective endometrial receptivity. *Biomolecules & Biomedicine*, 21(1), 46-55. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2020.4538>

Wang, Y., Fu, M., Zheng, Z., Feng, J., & Zhang, C. (2025). Small nucleolar RNAs: Biological functions and diseases. *MedComm*, 6(7), e70257. <https://doi.org/10.1002/mco2.70257>

Wang, Z., Zheng, Y., Zhong, C., Ou, Y., Feng, Y., Lin, Y., & Zhao, Y. (2023). Circular RNA as new serum metabolic biomarkers in patients with premature ovarian insufficiency. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 308(6), 1871-1879. <https://doi.org/10.1007/s00404-023-07219-x>

Wei, L., Xia, H., Liang, Z., Yu, H., Liang, Z., Yang, X., & Li, Y. (2022). Disrupted expression of long non-coding RNAs in the human oocyte: The possible epigenetic culprits leading to recurrent oocyte maturation arrest. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 39(10), 2215-2225. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02596-9>

Williams, Z., Morozov, P., Mihailovic, A., Lin, C., Puvvula, P. K., Juranek, S., Rosenwaks, Z., & Tuschl, T. (2015). Discovery and characterization of piRNAs in the human fetal ovary. *Cell Reports*, 13(4), 854-863. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.030>

Witchel, S. F., Oberfield, S. E., & Pena, A. S. (2019). Polycystic ovary syndrome: Pathophysiology, presentation, and treatment with emphasis on adolescent girls. *Journal of the Endocrine Society*, 3(8), 1545-1573. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00078>

World Health Organization. (2023). Infertility Prevalence Estimates, 1990–2021. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/978920068315>

Wu, J., Bao, J., Kim, M., Yuan, S., Tang, C., Zheng, H., Mastick, G. S., Xu, C., & Yan, W. (2014). Two miRNA clusters, miR-34b/c and miR-449, are essential for normal brain development, motile ciliogenesis, and spermatogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(28), E2851-E2857. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407777111>

Wu, X., Pan, Y., Fang, Y., Zhang, J., Xie, M., Yang, F., Yu, T., Ma, P., Li, W., & Shu, Y. (2020). The biogenesis and functions of piRNAs in human diseases. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 21, 108-120. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.05.023>

Xu, B., Zhang, Y. W., Tong, X. H., & Liu, Y. S. (2015). Characterization of microRNA profile in human cumulus granulosa cells: Identification of microRNAs that regulate Notch signaling and are associated with PCOS. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 404, 26-36. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.030>

Xu, J., Bao, Y., Jiang, L., et al. (2018). Overexpression of long non-coding RNA H19 promotes invasion and autophagy via the PI3K/AKT/mTOR pathways in trophoblast cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.138>

Yang, G., Zhang, B., Xu, M., Wu, M. J., Lin, J., Luo, Z. Y., Chen, Y. H., Hu, Q., Huang, G. P., & Hu, H. Y. (2024). Improving granulosa cell function in premature ovarian failure with umbilical cord mesenchymal stromal cell exosome-derived hsa_circ_0002021. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 21(6), 897-914. <https://doi.org/10.1007/s13770-024-00652-2>

Yao, G., Yin, M., Lian, J., Tian, H., Liu, L., Li, X., & Sun, F. (2010). MicroRNA-224 is involved in transforming growth factor- β -mediated mouse granulosa cell proliferation and granulosa cell

function by targeting Smad4. *Molecular Endocrinology*, 24(3), 540-551.
<https://doi.org/10.1210/me.2009-0432>

Yeh, L. Y., Lee, R. K., Lin, M. H., Huang, C. H., & Li, S. H. (2022). Correlation between sperm micro ribonucleic acid-34b and -34c levels and clinical outcomes of intracytoplasmic sperm injection in men with male factor infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12381.
<https://doi.org/10.3390/ijms232012381>

Yu, Y., Li, G., He, X., Lin, Y., Chen, Z., Lin, X., & Xu, H. (2021). MicroRNA-21 regulate the cell apoptosis and cell proliferation of polycystic ovary syndrome (PCOS) granulosa cells through target toll like receptor TLR8. *Bioengineered*, 12(1), 5789-5796.
<https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1969193>

Yu, Y., Zhang, Q., Sun, K., Xiu, Y., Wang, X., Wang, K., & Yan, L. (2022). Long non-coding RNA BBOX1 antisense RNA 1 increases the apoptosis of granulosa cells in premature ovarian failure by sponging miR-146b. *Bioengineered*, 13(3), 6092-6099.
<https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2031675>

Zaami, S., Orrico, A., Signore, F., Cavaliere, A. F., Mazzi, M., & Marinelli, E. (2021). Ethical, legal and social issues (ELSI) associated with non-invasive prenatal testing: Reflections on the evolution of prenatal diagnosis and procreative choices. *Genes*, 12(2), 204.
<https://doi.org/10.3390/genes12020204>

Zendjabil, M. (2024). Preanalytical, analytical and postanalytical considerations in circulating microRNAs measurement. *Biochemia Medica*, 34(2), 020501.
<https://doi.org/10.11613/BM.2024.020501>

Zeng, G., Liu, L., Wang, Y., Yu, J., Wang, H., & Li, F. (2025). Global, regional, and national burden and trends of reproductive-aged male and female infertility from 1990-2021. *Frontiers in Endocrinology*, 16, 1506229. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1506229>

Zhang, F., Zhang, H., Xiao, Y., Liu, M., Ren, A., Liu, S., & Wu, L. (2025). Integrated small and long RNA sequencing in single oocytes reveals piRNA-mediated transposon repression during human oogenesis. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2025.07.22.666229>

Zhang, J., Li, Y., Zhao, S., & Chen, J. (2021). LncRNA NEAT1 promotes the proliferation of granulosa cells in polycystic ovary syndrome by regulating the miR-381/IGF1 axis. *Journal of Ovarian Research*, 14(1), 164. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00922-2>

Zhang, L., Mao, B., Zhao, X., Yuan, Y., Wang, W., & Lin, S. (2022). Translation regulatory long non-coding RNA 1 (TRERNA1) sponges microRNA-23a to suppress granulosa cell apoptosis in premature ovarian failure. *Bioengineered*, 13(2), 2173-2180. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2023802>

Zhang, L., Sun, H., & Chen, X. (2023). Characterization of the long noncoding RNA transcriptome in human preimplantation embryo development. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 40(12), 2913-2923. <https://doi.org/10.1007/s10815-023-02951-4>

Zhang, L., Wang, Y., Peng, L. H., You, L. Q., Yang, Y., & Wei, Y. Z. (2015). Low long non-coding RNA HOTAIR expression is associated with down-regulation of Nrf2 in the spermatozoa of patients with asthenozoospermia or oligoasthenozoospermia. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(11), 14198-14205.

Zhang, M., Zhang, Q., Hu, Y., Xu, L., Jiang, Y., Zhang, C., Ding, L., Jiang, R., Sun, J., Sun, H., & Yan, G. (2017). miR-181a increases FoxO1 acetylation and promotes granulosa cell apoptosis via SIRT1 downregulation. *Cell Death & Disease*, 8(10), e3088. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.467>

Zhao, H., Hu, S., Qi, J., Wang, Y., Ding, Y., Zhu, Q., He, Y., Lu, Y., Yao, Y., Wang, S., Du, Y., & Sun, Y. (2022). Increased expression of HOXA11-AS attenuates endometrial decidualization in recurrent implantation failure patients. *Molecular Therapy*, 30(4), 1706-1720. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.01.036>

- Zhao, Y., Li, Q., Zhou, Y., et al. (2020). A Nine-Long Non-coding RNA Signature in Seminal Plasma-Derived Exosomes as a Potential Biomarker for Non-obstructive Azoospermia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 395. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00395>
- Conn, S. J., Pillman, K. A., Toubia, J., Conn, V. M., Salmanidis, M., Phillips, C. A., Roslan, S., Schreiber, A. W., Gregory, P. A., & Goodall, G. J. (2015). The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. *Cell*, 160(6), 1125–1134. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.014>
- Du, W. W., Yang, W., Liu, E., Yang, Z., Dhaliwal, P., & Yang, B. B. (2016). Foxo3 circular RNA retards cell cycle progression via forming ternary complexes with p21 and CDK2. *Nucleic Acids Research*, 44(6), 2846–2858. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw027>
- Hansen, T. B., Jensen, T. I., Clausen, B. H., Bramsen, J. B., Finsen, B., Damgaard, C. K., & Bhatt, J. (2013). Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 495(7441), 384–388. <https://doi.org/10.1038/nature11993>
- Jeck, W. R., & Sharpless, N. E. (2014). Detecting and characterizing circular RNAs. *Nature Biotechnology*, 32(5), 453–461. <https://doi.org/10.1038/nbt.2890>
- Jeck, W. R., Sorrentino, J. A., Wang, K., Slevin, M. K., Burd, C. E., Liu, J., Marzluff, W. F., & Sharpless, N. E. (2013). Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA*, 19(2), 141–157. <https://doi.org/10.1261/rna.035667.112>
- Kristensen, L. S., Andersen, M. S., Stagsted, L. V., Ebbesen, K. K., Hansen, T. B., & Bhatt, J. (2019). The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nature Reviews Genetics*, 20(11), 675–691. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0158-7>
- Li, Z., Huang, C., Bao, C., Chen, L., Lin, M., Wang, X., Zhong, G., Yu, B., Hu, W., Dai, L., Zhu, P., Chang, Z., Wu, Q., Zhao, Y., Jia, Y., Xu, P., Liu, H., & Shan, G. (2015). Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nature Structural & Molecular Biology*, 22(3), 256–264. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2959>

- Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., Maier, L., Mackowiak, S. D., Gregersen, L. H., Munschauer, M., Loewer, A., Ziebold, U., Landthaler, M., Kocks, C., le Noble, F., & Rajewsky, N. (2013). Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 495(7441), 333–338. <https://doi.org/10.1038/nature11928>
- Pamudurti, N. R., Bartok, O., Jens, M., Ashwal-Fluss, R., Stottmeister, C., Ruhe, L., Hanan, M., Wyber, E., Henber, Y., Kelber, J., Barber, D., Kadener, S., & Rajewsky, N. (2017). Translation of circRNAs. *Molecular Cell*, 66(1), 9–21.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.02.021>