

Uloga mikroRNK molekula u patogenezi osteoartritisisa

**Tudor, Karlo; Dembić, Zlatko; Prpić, Tomislav; Mađarević, Tomislav;
Salamon, Dea; Šestan, Branko; Jotanović, Zdravko**

Source / Izvornik: **Medicina Fluminensis, 2023, 59, 129 - 138**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

https://doi.org/10.21860/medflum2023_300571

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:446847>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#) / [Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of
Medicine - FMRI Repository](#)



Uloga mikroRNK molekula u patogenezi osteoartritisa

The Role of MicroRNA Molecules in Osteoarthritis Pathogenesis

Karlo Tudor^{1*}, Zlatko Dembić², Tomislav Prpić¹, Tomislav Mađarević¹, Dea Salamon³, Branko Šestan¹, Zdravko Jotanović¹

Sažetak. Osteoarthritis (OA) je multifaktorijska i poligenetska bolest koja zahvaća cijeli zglob, ali i periartikularno tkivo te predstavlja golem ekonomski trošak za javno zdravstvo u cijelom svijetu. Poznati su brojni geni za koje se smatra da sudjeluju u patogenezi OA, a u novije vrijeme sve se više istražuju epigenetski mehanizmi kao potencijalni rizični čimbenici zaslužni za nastanak OA. MikroRNK (miRNK) su male nekodirajuće molekule koje imaju ulogu u postranskripcijskoj regulaciji genskog izražaja. Njihovi geni čine 1 – 2 % ukupnog genoma i smatra se da bi potencijalno mogli regulirati i do 30 % kodirajućih gena. MiRNK molekule imaju bitnu ulogu u patogenezi nekih karcinoma, kardiovaskularnih, autoimunih kožnih te nekih neuroloških bolesti. Također, navedene molekule imaju važnu ulogu u patogenezi osteoartritisa. Velik broj miRNK molekula drugačije je izražen u hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom u odnosu na zdravu hrskavicu. Dokazano je da određene miRNK molekule reguliraju neke enzime zaslužne za razgradnju hrskavice, dok se neke povezuju s regulacijom apoptoze hondrocita, a neke s procesom regeneracije hrskavice. U svjetlu tih spoznaja napravljene su i prve studije koje nastoje dokazati povezanost određenih jednonukleotidnih polimorfizama nekih miRNK gena s predispozicijom za nastanak osteoartritisa. Budući da su svi današnji oblici terapije bolesnika s osteoartritisom usmjereni na liječenje posljedice bolesti, a ne uzroka, potrebna su daljnja istraživanja etiopatogeneze osteoartritisa. MiRNK molekule mogle bi igrati važnu ulogu u patogenezi OA te predstavljati jednu od potencijalnih meta za nove farmakoterapijske oblike liječenja.

Ključne riječi: jednonukleotidni polimorfizam; metaloproteinaze; mikroRNK; osteoarthritis

Abstract. Osteoarthritis (OA) is a multifactorial and polygenic disease, which affects joints as well as the periarticular tissue, and it represents a huge economic cost to public health systems worldwide. Numerous genes that are involved in the pathogenesis of the disease are already identified. More recently, the epigenetic mechanisms are being researched as the potential risk factors for osteoarthritis. MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding molecules which play a role in the post-transcriptional regulation of gene expression. Their genes make up to 1-2% of the total genome and it is thought that they could potentially regulate up to 30% of the coding genes. MiRNAs have important role in the pathogenesis of some cancers, cardiovascular, autoimmune, skin and neurological diseases. Furthermore, the above mentioned molecules have an important role in the pathogenesis of osteoarthritis. Various miRNA molecules are expressed differently in the cartilage affected by osteoarthritis as compared to the healthy cartilage. Certain miRNA molecules have also been shown to regulate enzymes responsible for cartilage degradation, some were associated with the regulation of chondrocyte apoptosis and some involved in cartilage regeneration processes. Due to these findings, some of the following studies tried to prove the connection between certain single nucleotide polymorphisms of some miRNA genes and the proneness to osteoarthritis. Given that all current therapies for osteoarthritis aim at treating the consequences of the disease rather than curing the cause, further research into etiopathogenesis of osteoarthritis is required. The MiRNA molecules could play an important role in the pathogenesis of the osteoarthritis and might easily be among the potential targets for the new pharmaceutical therapies.

Keywords: Metalloproteinases; MicroRNAs; Osteoarthritis; Polymorphism, Single Nucleotide

¹ Klinika za ortopediju i traumatologiju Lovran, Lovran, Hrvatska

² Institut za oralnu biologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Oslu, Zavod za molekularnu genetiku, Oslo, Norveška

³ Sveučilište Primorska, Fakultet zdravstvenih studija, Izola, Slovenija

***Dopisni autor:**

Karlo Tudor, dr. med.
Klinika za ortopediju i traumatologiju Lovran
Šetalište Maršala Tita 1, 51415 Lovran,
Hrvatska
E-mail: karlotudor@yahoo.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Osteoartritis (OA) je kronična, progresivna i multifaktorijalna bolest zglobova te ujedno jedan od vodećih uzroka invaliditeta u svijetu¹. Okolišni, mehanički i genetski čimbenici u 60 % slučajeva dovode do nastanka primarnog osteoartritisa (POA) kuka i u 39 % slučajeva do nastanka POA koljena kod žena²⁻⁴. Osim snažne povezanosti osteoartritisa i genetske predispozicije, nedavna istraživanja pokazuju povezanost epigenetskih modifikacija i progresije osteoartritisa⁵⁻⁸.

Osim snažne povezanosti osteoartritisa i genetske predispozicije, nedavna istraživanja pokazuju povezanost epigenetskih modifikacija i progresije osteoartritisa. MikroRNK su male nekodirajuće jednolančane RNK molekule koje imaju ulogu u epigenetskim mehanizmima. Dokazano je da određene miRNK molekule reguliraju neke od enzima zaslužnih za razgradnju hrskavice, dok se neke povezuju s regulacijom apoptoze hondrocita, a neke s procesom regeneracije hrskavice.

MikroRNK (miRNK) su male nekodirajuće jednolančane RNK molekule duljine 18-22 nukleotida koje imaju ulogu u epigenetskim mehanizmima. Zadaća im je postranskripcijska regulacija genskog izražaja, a utječu i na rast stanica regulirajući procese poput proliferacije i diferencijacije stanica⁹. Poznato je da miRNK imaju ulogu u patogenezi brojnih karcinoma, poput karcinoma tireoidne žlijezde, debelog crijeva, dojke, pluća, prostate i želuca¹⁰⁻¹³. Osim karcinoma, poznata je i povezanost miRNK molekula s kardiovaskularnim bolestima, autoimunim bolestima, upalnim bolestima, zatajivanju srca, neurološkim bolestima te bolestima kože¹⁴⁻¹⁸.

MiRNK igraju važnu ulogu u koštanoj biologiji, poput osteoblastične i hondrogene diferencijacije, resorpcije kosti, koštane formacije i enhondralne osifikacije¹⁹. Dokazano je da određene miRNK imaju ulogu u regulaciji brojnih proteolitičkih enzima koji uzrokuju razgradnju hrskavice zahvaćene osteoartritisom¹⁹⁻²⁶, a i poznato je da u toj bolesti nalazimo abnormalan izražaj određenih miRNK^{27, 28}.

PATOFIZIOLOGIJA OSTEOARTRITISA

Osteoartritis je bolest koja zahvaća zglobnu hrskavicu, sinovijalnu membranu, subhondralnu kost, zglobnu čahuru, ligamente, periartikularne mišiće i tetive. Smatra se da sama bolest počinje uslijed abnormalnog opterećenja hondrocita ili upale, što potiče stvaranje upalnih medijatora od strane hondrocita i makrofaga²⁹.

Poznati posrednici upale uključeni u patogenezu osteoartritisa jesu interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), interleukin-17 (IL-17), interleukin-18 (IL-18), monocitni kemotaktični protein 1 (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*; MCP1), čimbenik inhibicije leukemije (engl. *leukemia inhibitory factor*; LIF), s rastom povezan onkogen (engl. *growth – regulated oncogen*; GRO) i onkostatini M (engl. *oncostatin M*; OSM), kao i reaktivne vrste kisika (engl. *reactive oxygen species*; ROS)²⁹. Navedeni medijatori upale pojačavaju katabolizam hondrocita, zbog čega se u hrskavičnom matriksu otpuštaju brojni proteolitički enzimi (uključujući agrekanazu i matriks-metaloproteinaze) koji dovode do razgradnje matriksa²⁹.

Smatra se da sinovitis započinju proizvodi razgradnje hrskavice³⁰. Takve se čestice otpuštaju u sinovijalnu membranu gdje ih fagocitiraju makrofagi pojačavajući upalu. Makrofagi proizvode posrednike upale koji pospješuju razgradnju hrskavice te se stvara zatvoreni krug, a krajnji rezultat je uništena i nefunkcionalna hrskavica³⁰. U zglobu zahvaćenom osteoartritisom sinovijalne stanice i hondrociti proizvode velike količine matriks-metaloproteinaze (engl. *matrix metalloproteinases*; MMP), poput MMP-1, MMP-3, MMP-9, MMP-13 te metaloproteinaza iz obitelji dezintegrin i metaloproteinaza s motivima trombospondina (engl. *desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*; ADAMTS) poput ADAMTS4 i ADAMTS5^{29, 30}. Osim proteolitičkih enzima, sinovijalne stanice proizvode proupalne citokine kao što su interleukin 1 beta (IL-1 β), IL-6 te čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor alfa*; TNF- α)^{29, 30}. Iako sinovijalna membrana proizvodi neke kemokine i metaloproteinaze, najviše destruirajućih molekula otpušta se iz same hrskavice³⁰.

BIOGENEZA MIKRORNK

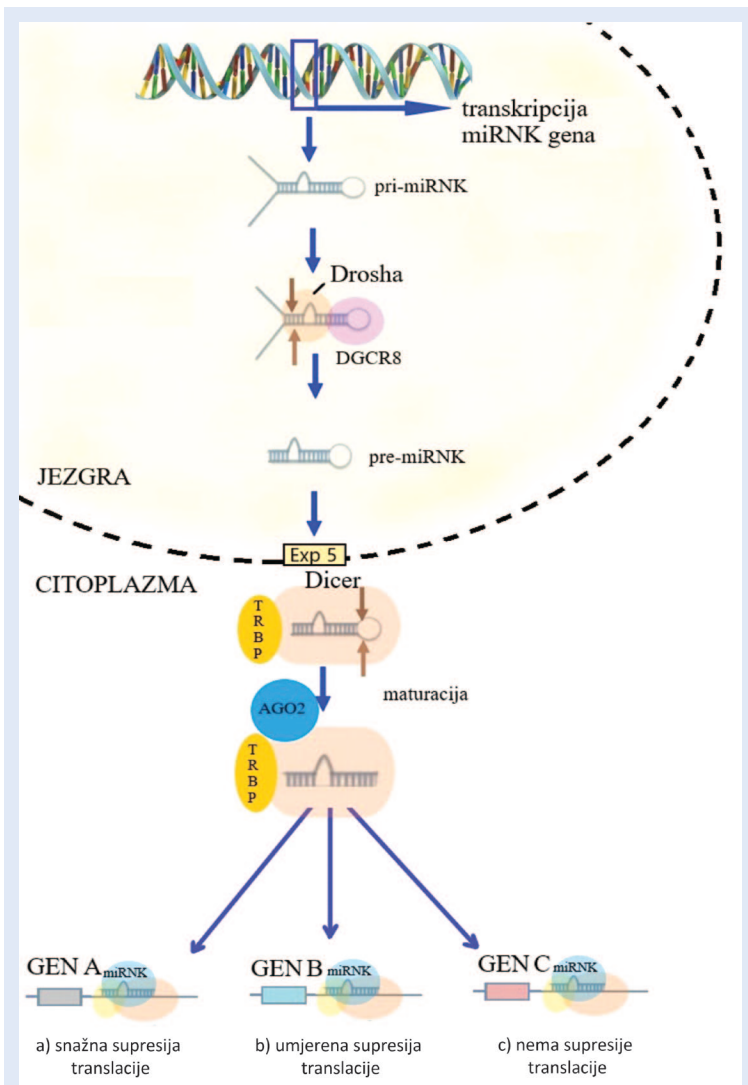
MikroRNK su male molekule (oko 22 nukleotida) čija je uloga postranskripcijska modulacija genskog izražaja. Modulacija može biti negativna (inhibicijom translacije i direktnom degradacijom mRNK) ili pozitivna (povećanjem broja translacija)³¹.

Kako bi miRNK funkcionirala kao inhibitor mRNK translacije, potrebna je primarna sekvencija koja je komplementarna regija ciljnoj mRNK, a samo nakon vezivanja primarne sekvencije miRNK s ciljnom mRNK, može se inhibirati translacija⁹. Prisutnost primarne sekvencije među različitim miRNK omogućilo je identifikaciju različitih obitelji miRNK. Za sada je poznato više od 1000 različitih miRNK, za koje je potrebno utvrditi njihove ciljne molekule u svrhu utvrđivanja njihove funkcije.

Biogeneza miRNK započinje njezinom transkripcijom od RNK polimeraze II te njezinim stvaranjem monocistronskog ili policistronskog dugačkog primarnog transkripta koji se zove primarni miRNK duljine oko 200 nukleotida⁹ (slika 1). U staničnoj jezgri pri-miRNK dalje se obrađuje pomoću proteinskog kompleksa Drosha (tip III RNaza) i proteina DGCR8 (engl. *DiGeorge syndrome critical region 8*; DGCR8) u kraću pre-miRNK koja broji 70 – 100 nukleotida⁹. Pre-miRNK se dalje transportira u citoplazmu pomoću eksportina 5, gdje ga druga RNaza, zajedno s RNK-vezujućim proteinom (engl. *trans-activation-responsive RNA-binding protein*; TRBP) cijepa u manju molekulu, dugačku oko 21 nukleotid, miRNK dupleks⁹. Dupleks se odmotava pomoću helikaze, a miRNK lanac vodilja ugrađuje se u multiproteinski RNK – inducirani utišani kompleks koji sadržava proteine Argonaut (AGO – *Protein argonaute*)⁹. Nakon toga cijeli kompleks može migrirati, naći svoju metu i regulirati njezinu transkripciju.

MIRNK I OSTEOARTRITIS

MiRNK molekule reguliraju brojne signalne puteve u mišićno-koštanom sustavu čovjeka te igraju važnu ulogu u koštanoj biologiji regulirajući procese poput osteoblastične i hondrogene diferencijacije, resorpcije kosti, koštane formacije i endhondralne osifikacije¹⁹. Zbog njihove dokaza-



Slika 1. Biogeneza i mehanizam djelovanja miRNK molekule

DGCR8 – DiGeorge syndrome critical region 8, Exp5 – Exportin 5, TRBP – trans-activation-responsive RNA-binding protein, AGO2 – Argonaut protein 2

ne uloge u fiziološkim procesima poput hondrogeneze, unazad dva desetljeća postale su predmet brojnih znanstvenih istraživanja koja su usmjerena na otkrivanje molekularnih mehanizama u etiopatogenezi osteoartritis. Zasada je identificirano više od 46 miRNK koje poveujemo s autofagijom, apoptozom, diferencijacijom i homeostazom hondrocita²⁷. Postoji širok spektar miRNK čija se izraženost u osteoartritisu razlikuje od izraženosti u zdravoj hrskavici^{27, 28}. Poznati su i specifični miRNK uključeni u patogenezu osteoartritis, poput miR-9, miR-27, miR-34a, miR-140, miR-146a, miR-558 i miR-602^{27, 28}. Važnost mikroRNK molekula u patogenezi osteoartritis oč-

tuje se i u njihovoj regulaciji signalnih putova molekula za koje je poznato da sudjeluju u procesu upale i degradacije hrskavice, poput transformirajućeg čimbenika rasta beta (engl. *transforming growth factor beta*; TGF- β), koštanog morfogenetskog proteina (engl. *bone morphogenetic protein*; BMP) te TNF- α ¹⁹⁻²⁶.

MIRNK I METALOPROTEINAZE

Osnovne komponente hrskavičnog ekstracelularnog matriksa su kolagen tipa II, proteoglikani i glikoproteini. U hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom, proteolitički enzimi MMP-1 i MMP-13 imaju dominantnu ulogu u razgradnji kolagena^{30, 32}. Osim kolagena, MMP-13 također razlaže proteoglikane. Dokazalo se da su ostale matriks-metaloproteinaze poput MMP-2, MMP-3 i MMP-9, koje razlažu nekolagene strukture matriksa, također povišene u procesu osteoartritis^{30, 32}.

Agrekanaze su metaloproteinaze koje pripadaju obitelji ekstracelularnih proteaza dezintegrin i metaloproteinaza s motivima trombospondina. U procesu osteoartritis, agrekanaze ADAMTS4 i ADAMTS5 imaju najveću ulogu u razgradnji proteoglikana³³. Smanjenje izražaja ADAMTS4 i ADAMTS5 koči razgradnju agrekana u ljudskoj hrskavici³³. Istraživanja pokazuju da miRNK imaju

ulogu u regulaciji izražaja brojnih proteolitičkih enzima hrskavice¹⁹⁻²⁶ (tablica 1).

Smanjen izražaj miR-146, u hrskavici početnog osteoartritis ljudi, dovodi do povišenog izražaja MMP-13 u odnosu na zdravu hrskavicu^{19, 21}. U ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom uočen je pretjeran izražaj gena za protein specifičnog zastoja rasta 5 (engl. *growth arrest-specific 5*; GAS5), reguliranog od miR-21 te povećan izražaj određenih metaloproteinaza, uključujući MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13 i ADAMTS4²².

MiR-222 regulira MMP-13 putem histonske deacetilaze 4 (engl. *histone deacetylase 4*; HDAC4) te se pokazalo da je izražaj miR-222 značajno smanjen u ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom, dok pojačan izražaj dovodi do potiskivanja apoptoze hondrocita, kao i smanjenog izražaja MMP-13²³.

Biomarker starenja, protein p16INK4a reguliran je od miR-24 te smanjena ekspresija istog miRNK dovodi do povećanja ekspresije p16INK4a, što za posljedicu ima povećanje vrijednosti MMP-1 i MMP-13 u laboratorijski uzgojenim hondrocitima²⁴. Inhibicija miR-22 u ljudskim hondrocitima zahvaćenim osteoartritisom dovodi do smanjivanja upalnog procesa, inhibicije kataboličke aktivnosti MMP-13 te aktivacije regeneracije hrskavice²⁵.

Tablica 1. MikroRNK i metaloproteinaze

Smanjena ekspresija	Metaloproteinaze	Literatura
miR-146a	↑ MMP-13	19,21
miR-24	↑ MMP-1, ↑ MMP-13	24
miR-22	↓ MMP-13	25
miR-21	↑ MMP-2, ↑ MMP-3, ↑ MMP-9, ↑ MMP-13, ↑ ADAMTS4,	22
miR-105	↑ ADAMTS 7, ↑ ADAMTS 12	34
mir-30a	↑ ADAMTS 5	35
miR-27b	↑ MMP-13	37
miR-9	↑ MMP-13	38
Povećana ekspresija	Metaloproteinaze	Literatura
miR-222	↓ MMP-13	23
miR-320	↑ MMP-13	26
miR-181	↑ MMP-2, ↑ MMP-9	47
miR-483	↑ MMP-3	65
miR-140	↓ MMP-13, ↓ ADAMTS 5	39
miR-381	↑ MMP-13	66
miR-145	↓ MMP-3, ↓ MMP-13	67

Budući da se MMP-13 smatra jednim od enzima najzaslužnijih za razgradnju hrskavice (razgradnjom kolagena tipa II), inhibicija miR-22 ima velik terapijski potencijal u liječenju osteoartritisa²⁵. Na životinjskim modelima miR-320 također je identificiran kao regulator MMP-13 te povećana ekspresija miR-320 dovodi do pojačanog izražaja navedenog enzima²⁶. U ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom smanjen izražaj miR-146a dovodi do povećanja izražaja MMP-13, IL-1 β i IL-6¹⁹. Pronađen je smanjen izražaj miR-105 u ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom te inverzno pojačan izražaj transkripcijskog čimbenika Runx2 (engl. *runt-related transcription factor 2*; Runx2), ADAMTS7 i ADAMTS12³⁴. Na ljudskim uzorcima hrskavice dokazano je da smanjenje izražaja miR-30a dovodi do povećanog izražaja ADAMTS 5³⁵. Na temelju analize i usporedbe ljudske hrskavice zahvaćene osteoartritisom i zdrave hrskavice zaključeno je da bi miR-181 mogao povećavati izražaj kaspaze – 3 (engl. *caspase 3*; CASP3), poli (ADP-ribozil) polimeraze (engl. *poly (ADP-ribose) polymerase*; PARP), MMP-2 i MMP-9 te inhibirati proliferaciju i promovirati apoptozu hondrocita u osteoartritisu tako da joj je ciljna molekula homolog-fosfataze i tenzina (engl. *phosphatase and tensin homolog*; PTEN)³⁶. Ekspresija miR-27 može se pronaći u normalnoj hrskavici i hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom te bi ista molekula mogla imati ulogu u regulaciji ekspresije MMP-13 u ljudskim hondrocitima³⁷. U ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom postoji pojačana ekspresija miR-9 u odnosu na hrskavicu zdravih kontrola, što uzrokuje pojačani izražaj MMP13³⁸. Na životinjskom modelu dokazano je da pojačani izražaj miR-140 dovodi do kočenja izražaja MMP-13 i ADAMTS5 te usporavanja osteoartritisa, što istu miRNK molekulu čini potencijalnom metom za farmakoterapijske oblike liječenja osteoartritisa³⁹.

Većina navedenih studija na ljudima jesu studije slučajeva i kontrola gdje je hrskavica zahvaćena osteoartritisom uzeta iz zglobova pacijenata koji su liječeni ugradnjom umjetnog zgloba, dok je zdrava hrskavica uzimana od bolesnika podvrgnutih operacijskim zahvatima poput traumatskih amputacija, odnosno s kadavera koji nisu bolovali od osteoartritisa.

JEDNONUKLEOTIDNI POLIMORFIZMI MIRNK I OSTEOARTRITIS

Genetski polimorfizam označava pojavu dvaju ili više različitih alela na istom genskom lokusu s određenom učestalošću u populaciji. Jednonukleotidni polimorfizmi (engl. *single nucleotide polymorfism*; SNP) mogu biti locirani u miRNK genskim promotorima (miR-P-SNP), dijelu DNK zaduženog za inicijaciju transkripcije jednolančanog RNK¹⁹. Takvi polimorfizmi mogu utjecati na afinitet vezanja transkripcijskog čimbenika, a genetske varijante određenih miRNK promotora povezane su s brojnim bolestima, poput raka, kardiovaskularnih bolesti i autoimunih bolesti¹⁴⁻¹⁸. Jednonukleotidni polimorfizmi mogu se nalaziti i na miRNK genu (miR-SNP) mijenjajući biogenezu, ekspresiju, funkciju i stabilnost same miRNK molekule te samim time mogu dovesti do brojnih patoloških stanja⁴⁰⁻⁴².

Prethodna su istraživanja identificirala funkcionalni jednonukleotidni polimorfizam rs2910164 (G > C), lociran na prekursorskoj molekuli miR-146a gena, koji modulira miR-146a biogenezu te je udružen s rizikom za nastanak brojnih karcinoma, kardiovaskularnih bolesti, moždanog udara, ankilozantnog spondilitisa i reumatoidnog artritisa¹⁹. Dokazano je da SNP rs2910164 (G > C) u miR-146a dovodi do smanjenja izražaja pre-miR-146a (samim time i do smanjenja izražaja zrele molekule miR-146a), što u konačnici dovodi do pojačanog izražaja gena za čimbenik povezan s TNF receptorom 6 (engl. *TNF receptor associated factor*; TRAF6) i gena za kinazu 1 povezanu s receptorom za interleukin-1 (engl. *Interleukin-1 receptor-associated kinase 1*; IRAK1), gena čija se pojačana izraženost dovodi u povezanost s nastankom osteoartritisa⁴³. Istražena je i povezanost SNP rs2910164 (G > C) u genu miR-146a s predispozicijom za nastanak osteoartritisa koljena u grčkoj populaciji te je dokazano da osobe s takvim genotipom u hondrocitima imaju smanjen izražaj miR-146a i povećan izražaj MMP-13, IL-1 β i IL-6¹⁹.

Budući da se genetski rizični čimbenici razlikuju između populacija^{44, 45}, slično istraživanje provedeno je i na meksičkoj populaciji te je dokazan pozitivan trend povezanosti SNP rs2910164 (G > C) u genu miR-146a i ženskog spola sa stupnjem

uznapredovanosti osteoartritis 2 i 4⁴³. Nijedna od navedenih studija nije našla statistički značajnu razliku u frekvenciji alela niti u distribuciji genotipova između grupe ispitanika s osteoartritisom koljena i ispitanika iz kontrolne skupine^{19, 43}.

U hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom, određene miRNK molekule uključene su u regulaciju nekih od proteolitičkih enzima najzaslužnijih za razgradnju ekstracelularnog matriksa zglobne hrskavice, poput MMP-1 i MMP-13 koji imaju dominantnu ulogu u razgradnji kolagena i agrekanaza ADAMTS4 i ADAMTS5 koje imaju najveću ulogu u razgradnji proteoglikana.

ULOGA MIRNK MOLEKULA U PROGRAMIRANOJ STANIČNOJ SMRTI HONDROCITA

U odnosu na zdravu hrskavicu, u hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom pronalazimo povećan broj hondrocita u stanju apoptoze. Dokazane su brojne miRNK molekule koje kroz različite ciljne molekule i mehanizme koče apoptozu, kao što su dokazane i miRNK molekule koje započinju i potiču apoptozu (tablica 2). MiRNK-34a je prva miRNK molekula za koju je na životinjskom modelu dokazano da je upletena u regulaciju apoptoze hondrocita⁴⁶. Po-

tom je zaključeno da miR-34 promovira apoptozu i koči proliferaciju ljudskih hondrocita regulirajući signalni put sirtuin 1 / protein 53 (engl. *sirtuin 1 / protein 53*; SIRT1/p53)⁴⁶. Povećan izražaj miR-181 smanjuje proliferaciju hondrocita i dovodi do povećanja broja hondrocita koji su u stanju apoptoze, kao i do pojačane aktivnosti MMP-2 i MMP-9⁴⁷. Također je zaključeno da je miR-146a uključen u regulaciju apoptoze hondrocita (kao odgovor na mehanički stres) te je uključen u patogenezu osteoartritis kroz povećanje izražaja vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*; VEGF)²¹. Dokazano je i da miR-197 potiče proliferaciju hondrocita te koči upalu u hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom djelujući na čimbenik otpočinjanja eukariotske transformacije 4 gama 2 (engl. *eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 2*; EIF4G2) kao ciljnu molekulu⁴⁸. Zaključeno je da miR-197/EIF4G2 osovina predstavlja potencijalnu metu u farmakoterapiji osteoartritis⁴⁸. MiRNK-103 pridonosi apoptozu hondrocita i napredovanju osteoartritis smanjujući aktivnost sfingozin-kinaze 1 (engl. *sphingosine kinase -1*; SPHK1)⁴⁹. Dokazan je i smanjen izražaj miR-142-5p u ljudskoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom⁵⁰. Pojačan izražaj miR-142-5p koči apoptozu hondrocita, smanjuje upalu i katabolizam hrskavičnog ekstracelularnog matriksa te inaktivira signalni put mitogenom aktivirane proteinske ki-

Tablica 2. MikroRNK i apoptoza hondrocita

Povećana ekspresija	Djelovanje	Literatura
miR-34	↓ apoptoza, ↑ proliferacija hondrocita	46
miR-181	↑ apoptoza, ↓ proliferacija hondrocita, ↑ MMP2, ↑ MMP9	47
miR-146a	↑ apoptoza hondrocita	21
miR-197	↑ proliferacija hondrocita	48
miR – 103	↑ apoptoza hondrocita	49
miR-142-5p	↓ apoptoza hondrocita	50
mir-495	↓ apoptoza hondrocita, ↑ proliferacija hondrocita	51
miR-93	↓ apoptoza hondrocita	52
miR-186	↓ apoptoza hondrocita	53
miR-128-3p	↓ apoptoza hondrocita	54
miR-107	↑ proliferacija hondrocita	55
miR-10a-5p	↑ apoptoza hondrocita	56
miR-21	↓ apoptoza hondrocita	22
miR-222	↓ apoptoza hondrocita	23

naze (engl. *mitogen-activated protein kinase*; MAPK) u hondrocitima hrskavice zahvaćene osteoartritisom⁵⁰. Na mišjoj hrskavici pokazano je da kočenje miR-495 potiskuje apoptozu i potiče proliferaciju hondrocita kroz aktivaciju nuklearnog čimbenika signalnog puta kapa-B (engl. *nuclear factor-κB*; NF-κB) reguliranog od kemokin (C-C motif) liganda 4 (engl. *chemokine (C-C motif) ligands*; CCL4)⁵¹. Analiziran je i izražaj miR-93 u mišjoj hrskavici zahvaćenoj osteoartritisom te je zaključeno da pojačan izražaj miR-93 smanjuje apoptozu hondrocita i upalni odgovor što se očituju u smanjenoj koncentraciji TNF-α, IL-1β i IL-6⁵². Toll-nalik receptor 4 (engl. *toll-like receptor 4*; TLR4) jedan je od regulatora signalnog puta NF-κB, a isti receptor je u hondrocitima identificiran kao ciljna molekula miR-93 molekule⁵². Dokazano je da miR-186 u interakciji s izlučenim fosfoproteinom 1 (engl. *secreted phosphoprotein 1*; SPP1) regulira signalni put PI3K-AKT te inhibira apoptozu mišjih hondrocita u hrskavici zahvaćenoj OA⁵³. U skladu s tim, miR-186 predstavlja jednu od ciljnih molekula za potencijalnu farmakoterapiju OA⁵³. Pojačan izražaj WNT1-inducibilnog signalnog proteinskog puta 1 (engl. *WNT1-inducible-signaling pathway protein 1*; WISP1), ciljne molekule od miR-128-3p, koči proliferaciju hondrocita te započinje apoptozu, razgradnju hrskavičnog matriksa, pojačano stvaranje proupalnih citokina te aktivira signalni put PI3K/Akt/NF-κB⁵⁴. MiR-128-3p preko WISP1 regulira proliferaciju ljudskih hondrocita, razgradnju matriksa i stvaranje proupalnih citokina u procesu OA⁵⁴. PTEN je pojačano izražen u tkivu zahvaćanom OA te je povezan s otpočinjanjem i razvojem OA tako da modulira odgovor hondrocita i homeostazu izvanstaničnog matriksa. PTEN je je potencijalna ciljna molekula miR-107 te njezin pojačan izražaj dovodi do smanjenja izražaja PTEN-a i pojačane proliferacije hondrocitima⁵⁵. Studija *in vivo* na životinjskim modelima dokazala je da miR-10a-5p potiče apoptozu hondrocita inhibirajući ekspresiju gena HOXA1 (engl. *Homeobox -1*; HOXA1) te na taj način ubrzava proces trošenja hrskavice u miševa⁵⁶.

MIRNK KAO BIOMARKERI U OSTEOARTRITISU

Osim miRNK koji djeluju unutar stanice, ekstracelularno pronalazimo brojne miRNK molekule koje

nazivamo c-miRNK (engl. *circulating microRNA*)⁵⁷. Takve molekule prisutne su u različitim tjelesnim tekućinama (krv, serum, plazma, suze, urin, slina, itd.) zbog čega su dostupne za ekstrakciju i analizu^{57,58}. Da bi se zaštitili od RNKaza, iste molekule zadržavaju stabilnost pomoću egzosoma, mikrovezikula, AGO-proteina, nukleofosmina I i lipoproteinskih kompleksa⁵⁷. Više od 50 % ljudskog genoma regulirano je od miRNA/c-miRNA molekula⁵⁹. Stoga je logično zaključiti da bi abnormalan izražaj određenih miRNK/c-miRNK mogao biti od velike važnosti u dijagnostici ili terapiji određenih bolesti, pa tako i u osteoartritisu.

U dosadašnjim istraživanjima dokazan je velik broj c-miRNK molekula čija je koncentracija povećana (miR-146, miR-223, miR-16, miR-20, miR-30, miR-126, miR-184, miR-186 itd.) ili smanjena (miR-140, miR-191, miR-342, miR-454, miR-let-7b, miR-let-7a, miR-27a, miR-329, miR-708, miR-934 itd.) u tjelesnim tekućinama osoba koje boluju od osteoartritisa u odnosu na zdrave kontrole⁶⁰. Također, u različitim fazama osteoartritisa pronalazimo različite koncentracije određenih c-miRNK molekula⁶⁰. U uznapredovanim stadijima osteoartritisa pronalazimo povišene vrijednosti miR-23a-3p, miR-24-3p, miR-27b-3p, miR-29c-3p, miR-34a-5p i miR-186-5p u odnosu na vrijednosti istih molekula u ranim fazama osteoartritisa⁶⁰.

Jedna od najviše istraživanih molekula upletenih u patogenezu osteoartritisa je miR-146, koja ima važnu ulogu u degradaciji zglobne hrskavice i induciranju sinovitisa, a njezin izražaj u osoba koje boluju od osteoartritisa znatno je povećan u odnosu na zdrave kontrole^{19,21}. Nadalje, dokazano je da njezin pojačan izražaj u plazmi pozitivno korelira s izražajem u hrskavici što je čini potencijalnim biomarkerom osteoartritisa⁶¹.

MiR-140 je također jedna od bolje proučavanih molekula koja sudjeluje u patogenezi osteoartritisa te je za nju dokazan smanjen izražaj u serumu i hrskavici osoba koje boluju od osteoartritisa u odnosu na zdrave kontrole⁶². Ima ulogu u regulaciji nekih od enzima koji degradiraju hrskavicu, poput ADAMTS5 i MMP-13, te je na životinjskim modelima dokazano da njezina pojačana ekspresija ima zaštitni učinak na nastanak osteoartritisa, što je čini zanimljivom za ulogu biomarkera ove bolesti⁶³.

Sve navedeno upućuje na potencijal upotrebe miRNK molekula kao biomarkera za osteoartritis, odnosno njihove upotrebe na polju dijagnostike, terapije i prognoze ove bolesti. Stvari nisu tako jednostavne iz razloga što često iste miRNK molekule imaju ulogu u patogenezi više različitih bolesti, zbog čega će vjerojatno biti potrebno uzimati u obzir više čimbenika prilikom interpretiranja nalaza na temelju promijenjenih vrijednost tih molekula.

POTENCIJALNA ULOGA MIRNK U FARMAKOTERAPIJI

MiRNK molekule sudjeluju u regulaciji određenih signalnih putova i enzima koji imaju važnu ulogu u degradaciji hrskavice te predstavljaju potencijalne ciljane molekule za lijekove koji bi se koristili za prevenciju i liječenje OA. U tijeku su istraživanja na pronalasku novih lijekova koji će djelovati na mehanizme određenih miRNK molekula u bolestima poput limfoma, kroničnog hepatitisa C, leukemije te mezotelioma⁶⁰. Koliko je autorima poznato, trenutno ne postoji lijek u razvoju koji bi koristio mehanizme regulacije izražaja određenih miRNK za prevenciju ili liječenje osteoartritis. No postoje pretklinička istraživanja koja predlažu određene miRNK molekule kao potencijalne mete s obzirom na njihovu ulogu u patogenezi osteoartritis^{25, 39, 48, 53}. Jedna od takvih molekula je i miR-34a-5p čiji pojačan izražaj pronalazimo u serumu, hrskavici i sinoviji bolesnika s uznapredovanim stadijem osteoartritis⁶⁴. Na modelu miševa oboljelih od osteoartritis također u istim tkivima pronalazimo pojačan izražaj te molekule⁶⁴. Dokazano je da miR-34a-5p antisense terapija (aplicirana 2, 4 i 6 tjedana od operacijskog zahvata) u miševa kojima je uklonjen medijalni meniskus, dovodi do zaštite hrskavice od degradacije, smanjene razgradnje proteoglikana, fibrilacije hrskavice te smanjenog izražaja kaspaze 3, PARP p85 i MMP-13 uz smanjenu degradaciju kolagena u usporedbi s kontrolnom skupinom⁶⁴.

ZAKLJUČAK

MikroRNK su male molekule koje imaju ulogu u postranskripcijskoj regulaciji genskog izražaja te predstavljaju jedno od većih otkrića unazad dva desetljeća. U posljednja dva desetljeća sve je veći

broj istraživanja uloge ovih važnih regulacijskih molekula u osteoartritisu, ali i u bolestima drugih tjelesnih sustava. Sadašnji rezultati ukazuju na velik potencijal ovih molekula na polju dijagnostike, ali još važnije i u liječenju osteoartritis. Stoga postoji nasušna potreba za daljnjim istraživanjima mehanizama miRNK molekula i njihovih ciljnih molekula. Jedan od mogućih terapijskih ciljeva mogle bi biti one mikroRNK molekule koje potiču apoptozu hondrocita. Razvojem lijekova koji djeluju antagonistički na te mikroRNK molekule potencijalno bi se moglo modificirati njihovo djelovanje u osteoartritisu.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju kako ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte S, Ackerman I, Fransen M. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1323-30.
2. Valdes AM, Spector TD. Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7:23-32.
3. Palazzo C, Nguyen C, Lefevre-Colau MM, Rannou F, Poiraudou S. Risk factors and burden of osteoarthritis. *Ann Phys Rehabil Med* 2016;59:134-138.
4. Cibrián UE, Wilkinson JM, Southam L, Zeggini E. Pathways to understanding the genomic aetiology of osteoarthritis. *Hum Mol Genet* 2017;26:93-201.
5. Peffers MJ, Balaskas P, Smagul A. Osteoarthritis year in review 2017: genetics and epigenetics. *Osteoarthritis Cartilage* 2018;26:304-311.
6. Reynard LN. Analysis of genetics and DNA methylation in osteoarthritis: What have we learnt about the disease? *Semin Cell Dev Biol* 2017;62:57-66.
7. Khan NM, Haqqi TM. Epigenetics in osteoarthritis: Potential of HDAC inhibitors as therapeutics. *Pharmacol Res* 2018;128:73-79.
8. Jeffries MA. Osteoarthritis year in review 2018: genetics and epigenetics. *Osteoarthritis Cartilage* 2019;27:371-377.
9. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116:281-297.
10. Reddy KB. MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell Int* 2015;15:38.
11. Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7269-7274.
12. Park R, Lopes L, Saeed A. Association between the functional miR-146a SNP rs2910164 and risk of digestive system cancer: updated meta-analysis. *Anticancer Res* 2020;40:1495-1502.
13. Park JH, Jeong GH, Lee KS, Lee KH, Suh JS, Eisenhut M et al. Genetic variations in MicroRNA genes and cancer risk: A field synopsis and meta-analysis. *Eur J Clin Invest* 2020;50:13203.

14. Srivastava K, Tyagi K. Single nucleotide polymorphisms of microRNA in cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta* 2018;478:101-110.
15. Alemán-Ávila I, Jiménez-Morales M, Beltrán-Ramírez O, Barbosa-Cobos RE, Jiménez-Morales S, Sánchez-Muñoz F et al. Functional polymorphisms in pre-miR146a and pre-miR499 are associated with systemic lupus erythematosus but not with rheumatoid arthritis or Graves' disease in Mexican patients. *Oncotarget* 2017;8:91876-91886.
16. Fu L, Jin L, Yan L, Shi J, Wang H, Zhou B et al. Comprehensive review of genetic association studies and meta-analysis on miRNA polymorphisms and rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus susceptibility. *Hum Immunol* 2016;77:1-6.
17. Mannucci C, Casciaro M, Minciullo PL, Calapai G, Navarra M, Gangemi S. Involvement of microRNAs in skin disorders: A literature review. *Allergy Asthma Proc* 2017;38:9-15.
18. Hussein M, Magdy R. MicroRNAs in central nervous system disorders: current advances in pathogenesis and treatment. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg* 2021;57:36.
19. Papathanasiou I, Mourmoura E, Balis C, Tsezou A. Impact of miR-SNP rs2910164 on miR-146a expression in osteoarthritic chondrocytes. *Adv Med Sci* 2020;65:78-85.
20. Li YP, Wei XC, Li PC, Chen CW, Wang XH, Jiao Q et al. The role of microRNAs in cartilage homeostasis. *Curr Genom* 2015;16:393-404.
21. Yamasaki K, Nakasa T, Miyaki S, Ishikawa M, Deie M, Adachi N et al. Expression of MicroRNA-146a in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 2009;60:1035-1041.
22. Song J, Ahn C, Chun CH, Jin EJ. A long non-coding RNA, GAS5, plays a critical role in the regulation of miR-21 during osteoarthritis. *J Orthop Res* 2014;32:1628-1635.
23. Song J, Jin EH, Kim D, Kim KY, Chun CH, Jin EJ. MicroRNA-222 regulates MMP-13 via targeting HDAC-4 during osteoarthritis pathogenesis. *BBA Clin* 2014;3:79-89.
24. Philipot D, Guérit D, Platano D, Chuchana P, Olivotto E, Espinoza F et al. p16INK4a and its regulator miR-24 link senescence and chondrocyte terminal differentiation-associated matrix remodeling in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2014;16:58.
25. Iliopoulos D, Malizos KN, Oikonomou P, Tsezou A. Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks. *PLoS One* 2008;3:3740.
26. Meng F, Zhang Z, Chen W, Huang G, He A, Hou C et al. MicroRNA-320 regulates matrix metalloproteinase-13 expression in chondrogenesis and interleukin-1 β -induced chondrocyte responses. *Osteoarthritis Cartilage* 2016;24:932-941.
27. Cong L, Zhu Y, Tu G. A bioinformatic analysis of microRNAs role in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2017;25:1362-1371.
28. Liu JN, Lu S, Fu CM. MiR-146a expression profiles in osteoarthritis in different tissue sources: a meta-analysis of observational studies. *J Orthop Surg Res* 2022;17:148.
29. Jotanović Z. Osteoarthritis zgloba kuka. In: Tudor A, Mađarović T (eds). *Kuk*. Zagreb: Medicinska naklada, 2018; 203-224.
30. Man GS, Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint. *J Med Life* 2014;7:37-41.
31. Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, Parker R. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes Dev* 2006;20:515-524.
32. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci* 2006;11:529-543.
33. Chu X, You H, Yuan X, Wenbin Z, Wenkai L, Xin G. Protective effect of lentivirus-mediated siRNA targeting ADAMTS-5 on cartilage degradation in a rat model of osteoarthritis. *Int J Mol Med* 2013;31:1222-1228.
34. Ji Q, Xu X, Xu Y, Fan Z, Kang L, Li L et al. miR-105/Runx2 axis mediates FGF2-induced ADAMTS expression in osteoarthritis cartilage. *J Mol Med (Berl)* 2016;94:681-694.
35. Ji Q, Xu X, Zhang Q, Kang L, Xu Y, Zhang K et al. The IL-1 β /AP-1/miR-30a/ADAMTS-5 axis regulates cartilage matrix degradation in human osteoarthritis. *J Mol Med (Berl)* 2016;94:771-785.
36. Wu XF, Zhou ZH, Zou J. MicroRNA-181 inhibits proliferation and promotes apoptosis of chondrocytes in osteoarthritis by targeting PTEN. *Biochem Cell Biol* 2017;95:437-444.
37. Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S, Anbazhagan AN, Voss FR, Haqqi TM. MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2010;62:1361-1371.
38. Zhang H, Song B, Pan Z. Downregulation of microRNA-9 increases matrix metalloproteinase-13 expression levels and facilitates osteoarthritis onset. *Mol Med Rep* 2018;17:3708-3714.
39. Si HB, Zeng Y, Liu SY, Zhou ZK, Chen YN, Cheng JQ et al. Intra-articular injection of microRNA-140 (miRNA-140) alleviates osteoarthritis (OA) progression by modulating extracellular matrix (ECM) homeostasis in rats. *Osteoarthritis Cartilage* 2017;25:1698-1707.
40. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:509-524.
41. Królczewski J, Sobolewska Lejnowski D, Collawn JF, Bartoszewski R. microRNA single polynucleotide polymorphism influences on microRNA biogenesis and mRNA target specificity. *Gene* 2018;640:66-72.
42. Kapinas K, Kessler CB, Delany AM. miR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts: regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling. *J Cell Biochem* 2009;108:216-224.
43. Miranda-Duarte A, Borgonio-Cuadra VM, González-Huerta NC, Rojas-Toledo EX, Ahumada-Pérez JF, Morales-Hernández E et al. Are functional variants of the microRNA-146a gene associated with primary knee OA? Evidence in Mexican mestizo population. *Mol Biol Rep* 2021;48:1549-1557.
44. Etokebe GR, Jotanovic Z, Mihelic R, Mulac-Jericevic B, Nikolic T, Balen S et al. Hip osteoarthritis susceptibility is associated with IL1B -511(G>A) and IL1 RN (VNTR) genotypic polymorphisms in Croatian Caucasian population. *J Orthop Res* 2011;29:1137-1144.
45. Jotanovic Z, Etokebe GE, Mihelic R, Kaarvatn MH, Mulac-Jericevic B, Tijanac T et al. IL1B -511(G>A) and IL1RN (VNTR) allelic polymorphisms and susceptibility to knee osteoarthritis in Croatian population. *Rheumatol Int* 2012;32:2135-2141.
46. Yan S, Wang M, Zhao J, Zhang H, Zhou C, Jin L et al. MicroRNA-34a affects chondrocyte apoptosis and proliferation by targeting the SIRT1/p53 signaling pathway during the pathogenesis of osteoarthritis. *Int J Mol Med* 2016;38:201-209.

47. Wu XF, Zhou ZH, Zou J. MicroRNA-181 inhibits proliferation and promotes apoptosis of chondrocytes in osteoarthritis by targeting PTEN. *Biochem Cell Biol* 2017;95:437-444.
48. Gao S, Liu L, Zhu S, Wng D, Wu Q, Ning G et al. MicroRNA-197 regulates chondrocyte proliferation, migration, and inflammation in pathogenesis of osteoarthritis by targeting EIF4G2. *Biosci Rep* 2020;40:20192095.
49. Li F, Yao J, Hao Q, Duan Z. miRNA-103 promotes chondrocyte apoptosis by down-regulation of Sphingosine kinase-1 and ameliorates PI3K/AKT pathway in osteoarthritis. *Biosci Rep* 2019;39:20191255.
50. Xiang Y, Li Y, Yang L, He Y, Jia D, Hu X. miR-142-5p as a CXCR4-Targeted MicroRNA Attenuates SDF-1-Induced Chondrocyte Apoptosis and Cartilage Degradation via Inactivating MAPK Signaling Pathway. *Biochem Res Int* 2020;2020:4508108.
51. Yang DW, Qian GB, Jiang MJ, Wang P, Wang K-Z. Inhibition of microRNA-495 suppresses chondrocyte apoptosis through activation of the NF- κ B signaling pathway by regulating CCL4 in osteoarthritis. *Gene Ther* 2019;26:217-229.
52. Ding Y, Wang L, Zhao Q, Wu Z, Kong L. MicroRNA-93 inhibits chondrocyte apoptosis and inflammation in osteoarthritis by targeting the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Int J Mol Med* 2019;43:779-790.
53. Lin Z, Tian XY, Huang XX, He LL, Xu F. microRNA-186 inhibition of PI3K-AKT pathway via SPP1 inhibits chondrocyte apoptosis in mice with osteoarthritis. *J Cell Physiol* 2019;234:6042-6053.
54. Chen S, Li B. MiR-128-3p Post-Transcriptionally Inhibits WSP1 to Suppress Apoptosis and Inflammation in Human Articular Chondrocytes via the PI3K/AKT/NF- κ B Signaling Pathway. *Cell Transplant* 2020;29:96368972093913.
55. Tian F, Wang J, Zhang Z, Yang J. miR-107 modulates chondrocyte proliferation, apoptosis, and extracellular matrix synthesis by targeting PTEN. *Int J Clin Exp Pathol* 2019;12:488-497.
56. Ma Y, Wu Y, Chen J, Huang K, Ji B, Chen Z et al. miR-10a-5p Promotes Chondrocyte Apoptosis in Osteoarthritis by Targeting HOXA1. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019;14:398-409.
57. Sohel MH. Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges. *Achiev Life Sci* 2016;10:175-186.
58. Beyer C, Zampetaki A, Lin NY, Kleyer A, Perricone C, Iagnocco A et al. Signature of circulating microRNAs in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2015;74:18.
59. Laczny C, Leidinger P, Haas J, Ludwig N, Backes C, Gerasch A et al. miRTrail—a comprehensive webserver for analyzing gene and miRNA patterns to enhance the understanding of regulatory mechanisms in diseases. *BMC Bioinformatics* 2012;13:36.
60. Lao TD, Le TAH. Data Integration Reveals the Potential Biomarkers of Circulating MicroRNAs in Osteoarthritis. *Diagnostics (Basel)* 2021;11:412.
61. Skrzypa M, Szala D, Gablo N, Czech J, Pajak J, Kopanska M et al. miRNA-146a-5p is upregulated in serum and cartilage samples of patients with osteoarthritis. *Pol Przegl Chir* 2019;91:1-5.
62. Ntounou E, Tzetis M, Braoudaki M, Lambrou G, Poulou M, Malizos K et al. Serum microRNA array analysis identifies miR-140-3p, miR-33b-3p and miR-671-3p as potential osteoarthritis biomarkers involved in metabolic processes. *Clin Epigenetics* 2017;9:1-15.
63. Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, Grogan SP, Higashiyama R, Inoue A et al. MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 responses. *Arthritis Rheum* 2009;60:2723-2730.
64. Endisha H, Datta P, Sharma A, Nakamura S, Rossomacha E, Younan C et al. MicroRNA-34a-5p Promotes Joint Destruction during Osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol* 2021;73:426-439.
65. Oliviero A, Della Porta G, Peretti GM, Maffulli N. MicroRNA in osteoarthritis: physiopathology, diagnosis and therapeutic challenge. *Br Med Bull* 2019;130:137-147.
66. Hou C, Meng F, Zhang Z, Kang Y, Chen W, Huang G et al. The Role of MicroRNA-381 in Chondrogenesis and Interleukin-1 β Induced Chondrocyte Responses. *Cell Physiol Biochem* 2015;36:1753-1766.
67. Martinez-Sanchez A, Lazzarano S, Sharma E, Lockstone H, Murphy CL. High-Throughput Identification of MiR-145 Targets in Human Articular Chondrocytes. *Life (Basel)* 2020;10:58.