



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

---

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

---

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΜΗΝΗ ΔΟΝΤΑ

*ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ*

ΥΠΟ:  
ΓΕΡΑΣΙΜΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΑΤΟΥ  
Ειδικευόμενου Ρευματολόγου

*Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ microRNAs ΣΤΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ  
ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ*

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Γ. Π. ΛΥΡΙΤΗΣ

Ομότιμος καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2019





ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

---

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

---

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΜΗΝΗ ΔΟΝΤΑ

*ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ*

ΥΠΟ:  
ΓΕΡΑΣΙΜΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΑΤΟΥ  
Ειδικευόμενου Ρευματολόγου

*Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ microRNAs ΣΤΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ  
ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ*

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Γ. Π. ΛΥΡΙΤΗΣ  
Ομότιμος καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2019



NATIONAL AND KAPODISTRIAN  
UNIVERSITY OF ATHENS  
MEDICAL SCHOOL

---

**POST-GRADUATE PROGRAM**  
**«METABOLIC BONE DISEASES»**

---

LABORATORY FOR THE RESEARCH OF MUSCULOSKELETAL DISEASES «TH.  
GAROFALIDES» DIRECTOR: PROFESSOR ISMINI DONTA

**MASTER THESIS**

**By:**  
**GERASIMOS EVANGELATOS**  
Resident in Rheumatology

*THE ROLE OF microRNAs in RHEUMATOID  
ARTHRITIS*

SUPERVISOR: GEORGE P. LYRITIS

Emeritus Professor of Orthopedics, National and Kapodistrian University of  
Athens, Medical School

**Athens, 2019**



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

*Ο συγγραφέας θα ήθελε να ευχαριστήσει το  
Φραγκούλη Γεώργιο (Ρευματολόγο)  
και το  
Λάμπρου Γεώργιο (Βιολόγο, επιβλέποντα)  
για τη συμβολή τους στη συγγραφή  
και τις πολύτιμες διορθώσεις τους.*

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **Προσωπικές Πληροφορίες:**

Όνοματεπώνυμο: Ευαγγελάτος Γεράσιμος

Όνομα πατρός: Σταύρος-Ευθύμιος

Ημερομηνία Γεννήσεως: 22 Ιανουαρίου 1989

Τηλέφωνα: 2108045688 (οικία) - 6979180370 (κινητό)

E-mail: gerevag@gmail.com

Διεύθυνση: Φλωρίνης 29Α, Βριλήσσια, ΤΚ 15235

### **Προπτυχιακή Εκπαίδευση:**

- Απόφοιτος Ιατρικής Σχολής Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, με βαθμό πτυχίου 7.95/10 («Λίαν Καλώς») (09/2006-07/2012).
- Απόφοιτος Ενιαίου Λυκείου Εκπαιδευτηρίων Δούκα (06/2006) με βαθμό απολυτηρίου 19,6 («Άριστα») και Βραβείο Προόδου από το Υπουργείο Παιδείας και Θρησκευμάτων.

### **Μεταπτυχιακή Εκπαίδευση:**

- Μεταπτυχιακός φοιτητής (2016-2018) στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών», Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Ειδικευόμενος Ιατρός στη Ρευματολογία, Ρευματολογικό Τμήμα, ΝΙΜΤΣ, Αθήνα (από 03/2019). Εν αναμονή συνέχισης της ειδικότητας στο «Λαϊκό» ΓΝΑ, Αθήνα, για ολοκλήρωση της ειδίκευσης στη Ρευματολογία.
- Ειδικευόμενος Ιατρός Παθολογικού Τομέα ΝΙΜΤΣ (05/2017-03/2019) με παρακολούθηση στο Ρευματολογικό Τμήμα του ΝΙΜΤΣ.
- Ειδικευόμενος Ιατρός Παθολογίας (10/2014-5/2017), Γ' Παθολογική Κλινική ΝΙΜΤΣ, Αθήνα, στα πλαίσια της εκπαίδευσης για το γενικό μέρος της ειδικότητας της Ρευματολογίας.
- 01/2014-10/2014: Παρακολούθηση - εθελοντική απασχόληση στη Μονάδα Ρευματολογίας-Κλινικής Ανοσολογίας, Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, «Ιπποκράτειο» ΓΝΑ, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Βασιλόπουλος.
- 09/2013-12/2013: Παρακολούθηση τετράμηνου προγράμματος μεταπτυχιακής εκπαίδευσης ιατρών, ΔΘΚΑ "ΥΓΕΙΑ". Παρακολούθηση: 1,5 μήνα στο Τμήμα

Ρευματολογίας (Διευθυντής: Καθηγητής Κήτας Γεώργιος), 1 μήνα στην ΣΤ' Παθολογική Κλινική (Διευθύντρια: Καθηγήτρια Γιαμαρέλλου Ελένη) και 1 μήνα στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (Διευθυντής: κος Πασκαλής Χαράλαμπος).

- 11/2012-07/2013: Οπλίτης Ιατρός στο Στρατό Ξηράς. ΚΕΤΘ Αυλώνα, 50η Μ/Κ Ταξιαρχία (Σουφλί, Διδυμότειχο), ΚΕΜΧ Ναύπλιο.
- Συμμετοχή σε πολυάριθμα σεμινάρια και workshops (υπερήχων μυοσκελετικού και triplex αγγείων, βιοστατιστικής & επιδημιολογίας, συγγραφής ερευνητικής εργασίας, απόκτησης κλινικών δεξιοτήτων κ.α.)

#### **Ερευνητική δραστηριότητα:**

- 6 δημοσιεύσεις σε ξένα peer-review περιοδικά, εκ των οποίων οι 4 ως πρώτος συγγραφέας. ORCID ID: 0000-0003-3822-3093
- 4 ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια και 7 ανακοινώσεις σε πανελλήνια συνέδρια.
- Συμμετοχή στην Ομάδα Εργασίας της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας (RA Study Group) και την Ομάδα Καταγραφής της Γιγαντοκυτταρικής Αρτηρίτιδας της Ελληνικής Ρευματολογικής Εταιρείας.
- Ερευνητικά ενδιαφέροντα: Παροδική και Μεταναστευτική Οστεοπόρωση, Οστική Νόσος Paget, Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, Οροαρνητικές Σπονδυλοαρθροπάθειες, Γιγαντοκυτταρική Αρτηρίτιδα και Ρευματική Πολυμυαλγία, κ.α.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερο αναδεικνύονται οι επιγενετικοί μηχανισμοί που συμβάλλουν στην παθογένεια των αυτοάνοσων νοσημάτων. Ένας από τους πιο μελετημένους τομείς της επιγενετικής είναι τα microRNAs (miRNAs). Τα miRNAs είναι μικρά, μη κωδικοποιά, RNA μόρια τα οποία συνδέονται σε messenger RNAs μειώνοντας έτσι τη μετάφραση γονιδίων-στόχων και επηρεάζοντας, έμμεσα, τα επίπεδα ορισμένων πρωτεϊνών. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια χρόνια συστηματική αυτοάνοση νόσος, στην οποία συμβαίνουν πληθώρα επιγενετικών μεταβολών, με το μεγαλύτερο μέρος της σχετικής έρευνας να έχει επικεντρωθεί στον τομέα των miRNAs. Φαίνεται ότι ορισμένα γονίδια που κωδικοποιούν για miRNAs διαδραματίζουν ρόλο στην αυξημένη γενετική προδιάθεση ορισμένων ατόμων για ανάπτυξη ΡΑ, ενώ μεταβολές των επιπέδων πολλών miRNAs σε διάφορα κύτταρα, ιστούς και βιολογικά υγρά ενέχονται στην παθοφυσιολογία της νόσου. Η έκφραση των miRNAs διαφέρει, επίσης, ανάλογα το στάδιο, την ενεργότητα και τις κλινικές εκδηλώσεις της ΡΑ. Επιπρόσθετα, η διαχρονική μεταβολή της συγκέντρωσης ορισμένων miRNAs έχει συνδεθεί με τη χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων. Τέλος, μόρια με αλληλουχία ανάλογη ή, αντίθετα, συμπληρωματική κάποιων miRNAs έχουν χρησιμοποιηθεί σε πειραματόζωα με στόχο τη θεραπεία της ΡΑ με αξιόλογα αποτελέσματα. Εν κατακλείδι, η γνώση γύρω από τα miRNAs στη ΡΑ συμβάλλει στην καλύτερη κατανόηση της γενετικής προδιάθεσης και της παθογένειας της νόσου, ενώ ανοίγει νέους δρόμους για την ανάδειξη διαφόρων πολύτιμων βιοδεικτών και νέων θεραπειών για τη ΡΑ.

**Λέξεις Κλειδιά:** *microRNA, επιγενετική, ρευματοειδής αρθρίτιδα*

## **ABSTRACT**

Over the last decade, many epigenetic mechanisms that contribute in the pathogenesis of autoimmune disorders have been revealed. One of the most studied fields of the epigenetics is the microRNAs (miRNAs). MiRNAs are small, non-coding, RNA molecules that bind to messenger RNAs and disturb the transcription of target genes. Thus, miRNAs indirectly affect the levels of specific proteins. Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune disease during whom a plethora of epigenetic changes take place. Current research on RA epigenetics has focused mainly on miRNAs. Genetic variance of some miRNA genes might predispose an individual to RA development. Additionally, altered concentration of many miRNAs has been discovered in several cells, tissues and body fluids in patients with RA and these changes play a critical role in RA pathophysiology. MiRNAs expression also differs depending on disease's stage, activity and clinical manifestations. What is more, the level of specific miRNAs was shown to correlate with some drugs that are used in the treatment of RA. Finally, miRNA analogs or antagonists have been used as treatment in experimental arthritis models and have demonstrated promising results. In conclusion, the research on the miRNA alterations in RA sheds light to the genetic susceptibility for RA, to RA pathogenesis and offers the opportunity to discover new biomarkers and invent new drugs for the patients with RA.

**Key Words:** *microRNA, epigenetics, rheumatoid arthritis*

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	VI
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	VII
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	IX
ABSTRACT .....	X
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ .....	XI
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ .....	XIII
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	XVI
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	XVII
ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	XVIII
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
<b>1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ .....</b>	<b>3</b>
1.1. MicroRNA .....	3
1.2. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα .....	5
1.2.1. Γενικά .....	5
1.2.2. Επιδημιολογία .....	5
1.2.3. Παθοφυσιολογία.....	5
1.2.4. Παθολογοανατομία .....	7
1.2.5. Κλινική Εικόνα.....	8
1.2.6. Διάγνωση & Διαφορική Διάγνωση .....	8
1.2.7. Θεραπεία.....	9
<b>2. microRNA και ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΓΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ .....</b>	<b>11</b>
<b>3. ΤΑ microRNAs ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ .....</b>	<b>15</b>
3.1. Από την Υποκλινική Συστηματική Φλεγμονή στην Κλινική Εκδήλωση .....	16
3.2. microRNAs και Αυτοαντισώματα .....	17
3.2.1. <i>microRNAs και Porphyromonas Gingivalis</i> .....	17
3.2.2. <i>microRNAs και ACPA Αντισώματα</i> .....	17
3.3. Πολλαπλά Ενδοκυττάρια Μονοπάτια Επηρεάζονται Κατά την Παθογένεση της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας .....	17
3.4. microRNAs και Κυκλοφορούντα Εξωκυττάρια Κυστίδια .....	18
3.5. microRNAs και Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs).....	19
3.6. microRNAs και T-Λεμφοκύτταρα .....	22
3.7. microRNAs και Δενδριτικά Κύτταρα .....	25
3.8. microRNAs στον Αρθρικό Υμένα .....	26
3.9. microRNAs στον Αρθρικό Μακροφάγο .....	27
3.10. microRNAs και RASFs .....	28
3.11. microRNAs και Αρθρικός Χόνδρος .....	41
3.12. microRNAs και Οστικός Μεταβολισμός .....	41

<b>4. ΤΑ microRNAs ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ..</b>	<b>44</b>
4.1. Κλινικό Στάδιο της ΡΑ.....	44
4.2. Βαρύτητα Κλινικής Εικόνας .....	44
4.3. microRNAs στη Διάμεση Πνευμονική Νόσο .....	47
4.4. microRNAs, Υπεραλγησία και Περιφερική Νευροπάθεια .....	48
<b>5. ΤΑ microRNAs ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ.....</b>	<b>49</b>
<b>6. microRNAs ΚΑΙ Η ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ .....</b>	<b>55</b>
6.1. Συμβατικά (Μη-Βιολογικά) DMARDs .....	55
6.2. Αναστολείς του TNFα και Άλλοι Βιολογικοί Παράγοντες .....	56
6.3. Άλλες Θεραπείες .....	59
6.4. Συμπεράσματα .....	59
<b>7. microRNAs ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ .....</b>	<b>61</b>
<b>8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>65</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>68</b>

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΗ	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ
ADAM10	A Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10
AHR	Aryl hydrocarbon receptor
AKAP12	A-kinase anchoring protein 12
AKT2	Protein kinase B 2
APAF1	Apoptotic protease activating factor 1
APC	Adenomatous polyposis coli (γονίδιο)
ARNT	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
ASK1	Apoptosis signal-regulating kinase 1
AUC	Area under the curve
AXL	AXL receptor tyrosine kinase
BAFF	B-cell activating factor
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Btk	Bruton's Tyrosine Kinase
BTRC	Beta-transducin repeat containing
CASP10	Caspase 10
CD	Cluster of Differentiation
CDK-2	Cyclin-dependent kinase 2
CIA	Collagen-induced arthritis
cIAP2	Baculoviral IAP repeat-containing protein3
CREB1	CAMP responsive element binding protein 1
CRP	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CXCL12	C-X-C motif chemokine ligand 12
Cyr61	Cysteine-rich angiogenic inducer 61
DAPK1	Death-associated protein kinase 1
DAS28	Disease Activity Score 28
DICER	Endoribonuclease Dicer ή helicase with RNase motif
DKK-1	Dickkopf-1
Dkk2	Dickkopf-related protein 2
DNA	Δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DNMT	DNA μεθυλτρασφεράση
DGCR8	DiGeorge syndrome chromosomal region 8
EBV	Epstein Barr Virus
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EULAR	European League Against Rheumatism
FAF1	Fas-associated factor 1
FSTL1	Follistatin-like protein 1
FOXO3	Forkhead box O3
Foxp3	Forkhead box P3
FZD8	Frizzled 8
GAPLINC	Gastric Adenocarcinoma Associated, Positive CD44 Regulator, Long Intergenic Non-Coding RNA
GM-SCF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
HLA	Human leukocyte antigen
IFN-γ	Ιντερφερόνη γ
IKKα	IκB kinase α
IKBKE (IKKε)	IκB kinase ε
IGFBP5	IGF-binding protein 5

I $\kappa$ B-a	pcDNA-inhibitor of NF- $\kappa$ B
IKK- $\alpha$	Inhibitor of nuclear factor k-B kinase subunit a
IL	Interleukin
IL17RD	IL-17 receptor D
IRAK1	IL-1 receptor-associated kinase 1
IRF9	Interferon regulatory factor 9
JAK	Janus Kinase
JNK	c-Jun N-terminal kinase
KIAA1199 (CEMIP)	Cell migration-inducing and hyaluronan-binding protein
LC3	microtubule-associated protein (MAP)-light chain 3
lncRNA	Long-non coding RNA
LRRC15	Leucine-rich repeat containing 15
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
MeCP2	Methyl-CpG binding protein 2
MMP	Matrix metalloproteinase
NDRG2	N-myc downstream-regulated gene 2
NFAT5	Nuclear factor of activated T-cells 5
NFI-A	Nuclear factor I-A
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor kappa beta
NLRP3 φλεγμονόσωμα	Nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3
OPN	Osteopontin
Osx	Osterix
PADI4	Peptidyl arginine deiminase type 4
p-AKT	Protein kinase B
PD-1	Programmed death 1
PDL	Programmed death ligand
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PIAS3	Protein inhibitor of activated STAT3
PIK3R2	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 2
PKA	Protein Kinase A
p-p65	Phospho-p65
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
RB1	Retinoblastoma
REST	repressor element-1 silencing transcription factor
RNA	Ριβονουκλεϊκό οξύ
ROBO1	Roundabout 1
ROR $\gamma$ t	RAR-related orphan receptor gamma t
Runx2	Runt-related transcription factor 2
SCDF1	Stromal cell-derived factor 1
SEMA3A	Semaphorin 3A
SFRP4	Secreted frizzled-related protein 4
SHIP-1	Src homology 2-containing inositol phosphatase-1
siRNA	Short interference RNA
SOX5	SRY-related HMG-box 5
STAT	Signal transducer and activator of transcription
TAK1	Transforming growth factor beta-activated kinase 1
TBX5	T-box transcription factor 5
T <sub>CM</sub>	T central memory cells
T <sub>EM</sub>	T effector memory cells
TGF- $\beta$	Transforming growth factor $\beta$
TGFBR II	Transforming growth factor beta receptor II

<b>Th</b>	T βοηθητικά λεμφοκύτταρα
<b>TIM-3</b>	T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3
<b>TKE</b>	Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor $\alpha$
<b>TP53</b>	Tumor Protein 53
<b>TRAF</b>	tumor necrosis factor receptor-associated factor
<b>Tregs</b>	T regulatory cells
<b>TTP</b>	tristetraprolin
<b>TXNDC5</b>	Thioredoxin domain-containing protein 5
<b>TXNIP</b>	Thioredoxin-interacting protein
<b>VEGF165</b>	Vascular endothelial growth factor 165
<b>VIP</b>	Vasoactive Intestinal Peptide
<b>Wnt pathway</b>	Wingless/Integrated pathway
<b>XIAP</b>	X-linked inhibitor of apoptosis protein
<b>AGO1/2</b>	Argonate 1/ 2
<b>ERK1/2</b>	Extracellular signal-regulated kinase 1 / 2
<b>SOCS1, 3</b>	Suppressor of cytokine signaling 1
<b>TAB2, 3</b>	TGF-b–activated kinase 1/MAP3K7 binding protein 2, 3

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1.** Η βιογένεση του miRNA. Μετά τη μεταγραφή του γονιδίου του miRNA από τις RNA πολυμεράσες προκύπτει το pri-miRNA, το οποίο αποκόπτεται στο 5' και 3' άκρο του από τις ενδονουκλεάσες Drosha και DGCR8 και προκύπτει το pre-miRNA. Το pre-miRNA μεταφέρεται με τη βοήθεια της εξωπορτίνης-5 εκτός του πυρήνα. Στο κυτταρόπλασμα περικόπτεται εκ νέου από τη DICER και προκύπτει το τελικό ώριμο διπλής έλικας miRNA. Οι δύο έλικες αποχωρίζονται με τη μία να αποδομείται και την άλλη να συνδέεται με την AGO και να σχηματίζει το σύμπλοκο RISC..... 4
- Εικόνα 2.** Η δράση του miRNA. Το miRNA συνδέεται με αναλογία βάσεων σε mRNA-στόχους, εμποδίζοντας τη μετάφρασή τους και μειώνοντας έτσι την παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης. .... 4
- Εικόνα 3.** Τα αποτελέσματα της επίδρασης των αλλαγών των miRNAs στα βασικά κύτταρα που συμμετέχουν στην παθογένεια της PA. Στους RASFs τα κύρια ενδοκυττάρια μονοπάτια που επηρεάζονται από αυτές τις αλλαγές είναι εκείνα των Wnt, του NF-κB, των TLRs και του JAK/STAT. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται οι επιζήμιες αλλαγές, ενώ με πράσινο χρώμα απεικονίζονται οι αντιρροπιστικές μεταβολές που προκαλούνται. PBMCs: Peripheral Blood Mononuclear Cells, RASFs: Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts, Th17: T helper 17, Tregs: T regulatory cells..... 15
- Εικόνα 4.** Η μέτρηση των επιπέδων συγκεκριμένων κυκλοφορούντων miRNAs προ της έναρξης της θεραπείας μπορεί να προβλέψει την ανταπόκριση του ασθενούς στη συγκεκριμένη αγωγή. Στην εικόνα απεικονίζονται ποια επίπεδα (υψηλά ή χαμηλά) miRNAs συνδέθηκαν με καλή ανταπόκριση σε συγκεκριμένα φάρμακα. cDMARDs: conventional Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs. TNF: Tumor Necrosis Factor. .... 60



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Γονίδια που κωδικοποιούν για miRNA και σχέση πολυμορφισμών τους με πιθανότητα ανάπτυξης ΡΑ. ....	14
<b>Πίνακας 2.</b> Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στα PBMCs, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών. ....	22
<b>Πίνακας 3.</b> Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στους υπότυπους των κυκλοφορούντων Τ λεμφοκυττάρων του πλάσματος, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών. ....	23
<b>Πίνακας 4.</b> Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στους RASFs, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών. ....	40
<b>Πίνακας 5.</b> Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στο πλάσμα ασθενών με ΡΑ, σε σχέση με τους υγιείς. ....	54

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην αυγή του 21ου αιώνα η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος θεωρήθηκε ότι θα έδινε την απάντηση στο ερώτημα της αιτιοπαθογένειας πολλών νοσημάτων. Οι ελπίδες αυτές δεν άργησαν να διαψευστούν όταν συνειδητοποιήθηκε η μεγάλη απόσταση που χωρίζει το γονότυπο από το φαινότυπο, καθώς και ότι μικρό μόνο τμήμα του γενετικού υλικού μεταγράφεται και μεταφράζεται σε πρωτεΐνες. Ως συνέπεια αυτών, πολλά νέα ζητήματα γεννήθηκαν: ποιος ο ρόλος του «μη κωδικοποιητικού» DNA; τί θα μπορούσε να μεσολαβεί μεταξύ του γονιδιώματος και του περιβάλλοντος ώστε να τροποποιείται η γονιδιακή έκφραση;

Τα τελευταία χρόνια, η πρόοδος της κυτταρικής βιολογίας επέτρεψε την ανακάλυψη πολλών μορίων, καθένα από τα οποία κατέχει καθορισμένη θέση σε ένα δαιδαλώδες ενδοκυττάριο δίκτυο αλληλεπιδράσεων που τροποποιεί τη μεταγραφή και τη μετάφραση των γονιδίων. Το σύνολο των μηχανισμών που επιδρούν στην έκφραση των γονιδίων, αλλά όχι στην αλληλουχία του DNA, καλείται επιγονιδίωμα. Σε αυτούς τους επιγενετικούς μηχανισμούς συμπεριλαμβάνονται τροποποιήσεις των ιστονών, προσθήκη ομάδων (π.χ. μεθυλίου) στα δεοξυριβονουκλεοτίδια, καθώς και πολλά μη κωδικοποιητικά ριβονουκλεοτιδικά μόρια (microRNAs, siRNAs, lncRNAs κ.α.). Από τα τελευταία, αυτά που έχουν μελετηθεί καλύτερα μέχρι σήμερα είναι τα microRNAs. Εκτός από το φυσιολογικό ρόλο της ρύθμισης της έκφρασης του DNA, οι προαναφερθέντες μηχανισμοί έχουν ενοχοποιηθεί για συμμετοχή στην ανάπτυξη πολλών νόσων.

Η παθογένεια των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι πολύπλοκη και εν μέρει, μόνο, γνωστή. Σε αυτή εμπλέκονται πολύπλοκοι ενδοκυττάριοι και εξωκυττάριοι μηχανισμοί. Τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες, επιδρώντας σε γενετικώς προδιατεθειμένα άτομα, οδηγούν σε μοριακές αλλαγές οι οποίες σταδιακά και αθροιστικά αποσταθεροποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα. Ως αποτέλεσμα, το τελευταίο στρέφεται ενάντια σε ίδια αντιγόνα αναπαράγοντας μια εμμένουσα φλεγμονώδη απάντηση, η οποία εκδηλώνεται με άλλοτε άλλες μορφές, ανάλογα με τον ιστό-στόχο και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού που ενέχονται σε αυτή .

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μια χρόνια συστηματική αυτοάνοση νόσος, που επηρεάζει κυρίως τις αρθρώσεις και προσβάλλει εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον κόσμο. Αν και η μέχρι σήμερα έρευνα έχει ρίξει φως σε μερικές πλευρές της παθοφυσιολογίας της, πολλά ερωτήματα μένουν αναπάντητα. Σε αυτό το πλαίσιο, όλο και περισσότερες μελέτες την τελευταία δεκαετία αναδεικνύουν τη σημασία των επιγενετικών μηχανισμών στην παθογένεια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, με σημαντικό τμήμα να επικεντρώνεται στον τομέα των microRNAs.

Η παρούσα εργασία αποτελεί μια προσπάθεια προσέγγισης του ρόλου των microRNAs σε διάφορες πτυχές της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Τη στιγμή που γράφονται αυτές οι γραμμές σημαντικός αριθμός ερευνών με αντικείμενο μελέτης διάφορα μόρια microRNAs σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα διεξάγεται από τη μία άκρη του κόσμου μέχρι την άλλη. Τελικά, στο επιγονιδίωμα ίσως να κρύβονται οι τρόποι εκείνοι με τους οποίους το περιβάλλον επιδρά στο γενετικό υλικό αλλά και βαθύτεροι, προηγούμενως άγνωστοι, μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεια διαφόρων νοσημάτων, όπως της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παθογένεια των χρόνιων αυτοάνοσων νοσημάτων είναι, εν πολλοίς, άγνωστη και αινιγματική. Σε αυτήν εμπλέκονται πολύπλοκοι μηχανισμοί, με το κομβικό σημείο να είναι η απώλεια της ανοσολογικής ανοχής. Η ανοσολογική ανοχή είναι η διαδικασία με την οποία ο οργανισμός απομονώνει τα αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα, δηλαδή τα λεμφοκύτταρα εκείνα που στρέφονται ενάντια σε αντιγόνα του ίδιου του οργανισμού. Εκτός από σπάνιες περιπτώσεις κάποιας σοβαρής γενετικής διαταραχής (όπως π.χ. ιντερφερονοπάθειες), οι γενετικές αλλαγές από μόνες τους δεν αρκούν για να αναπτυχθεί μια αυτοάνοση ή αυτοφλεγμονώδης νόσος. Η επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων στο ανοσοποιητικό σύστημα εκφράζεται κυρίως μέσα από επιγενετικές τροποποιήσεις.

Ο όρος επιγενετική περιλαμβάνει μεταβιβάσιμες (1) ή μη (2) αλλαγές του φαινοτύπου, χωρίς αυτές να συνοδεύονται από αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Έχουν περιγραφεί πολλών ειδών επιγενετικοί μηχανισμοί. Η μεθυλίωση βάσεων κυτοσίνης σε συγκεκριμένα σημεία του DNA, ιδίως στους προαγωγείς (promoters) των γονιδίων, οδηγεί σε αναστολή της μεταγραφής αυτών των γονιδίων. Επιπρόσθετα, οι ιστόνες μπορούν να τροποποιηθούν με πολλούς τρόπους (ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση, ουβικουϊνίωση, κιτρουλλινίωση κ.α.), καθένας από τους οποίους, μέσω δομικών τροποποιήσεων της χρωματίνης, επηρεάζει διαφορετικά τη μεταγραφή των γονιδίων. Για παράδειγμα, η ακετυλίωση των ιστονών ευοδώνει τη μεταγραφή. Τέλος, μη μεταφράσιμα είδη RNA, όπως τα microRNAs (miRNAs) και τα lncRNAs, ασκούν τροποποιητική δράση πάνω στο messenger RNA (mRNA) και όχι μόνο.

Στα χρόνια αυτοάνοσα νοσήματα, όπως και στις νεοπλασίες, έχουν παρατηρηθεί διάφορες επιγενετικές αλλαγές. Συγκεκριμένα για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), έχει παρατηρηθεί διάχυτη υπομεθυλίωση του DNA των Τ λεμφοκυττάρων (3, 4), καθώς και αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA στα μονοπύρνα του περιφερικού αίματος (5, 6) και τους αρθρικούς ινοβλάστες (7-11). Επίσης, έχουν αναφερθεί τροποποιήσεις των ιστονών, καθώς και των αντίστοιχων ενζύμων που τις καταλύουν (12-15). Τέλος, διάφορα miRNAs έχουν συνδεθεί με λειτουργίες των κυττάρων της έμφυτης και της επίκτητης ανοσίας, ενώ πληθώρα διαταραχών της

συγκέντρωσης miRNAs έχουν βρεθεί σε πολλές νεοπλασίες και αυτοάνοσα νοσήματα (16).

Στα επόμενα κεφάλαια, θα ακολουθήσει εκτενής αναφορά στις αλλαγές που έχουν παρατηρηθεί στα επίπεδα των miRNAs σε διάφορους τύπους κυττάρων σε ασθενείς με ΡΑ. Πριν, όμως, την ανάλυση αυτή, σκόπιμο κρίνεται να υπενθυμιστούν κάποιες βασικές γνώσεις περί των microRNAs και της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

# 1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

## 1.1. MicroRNA

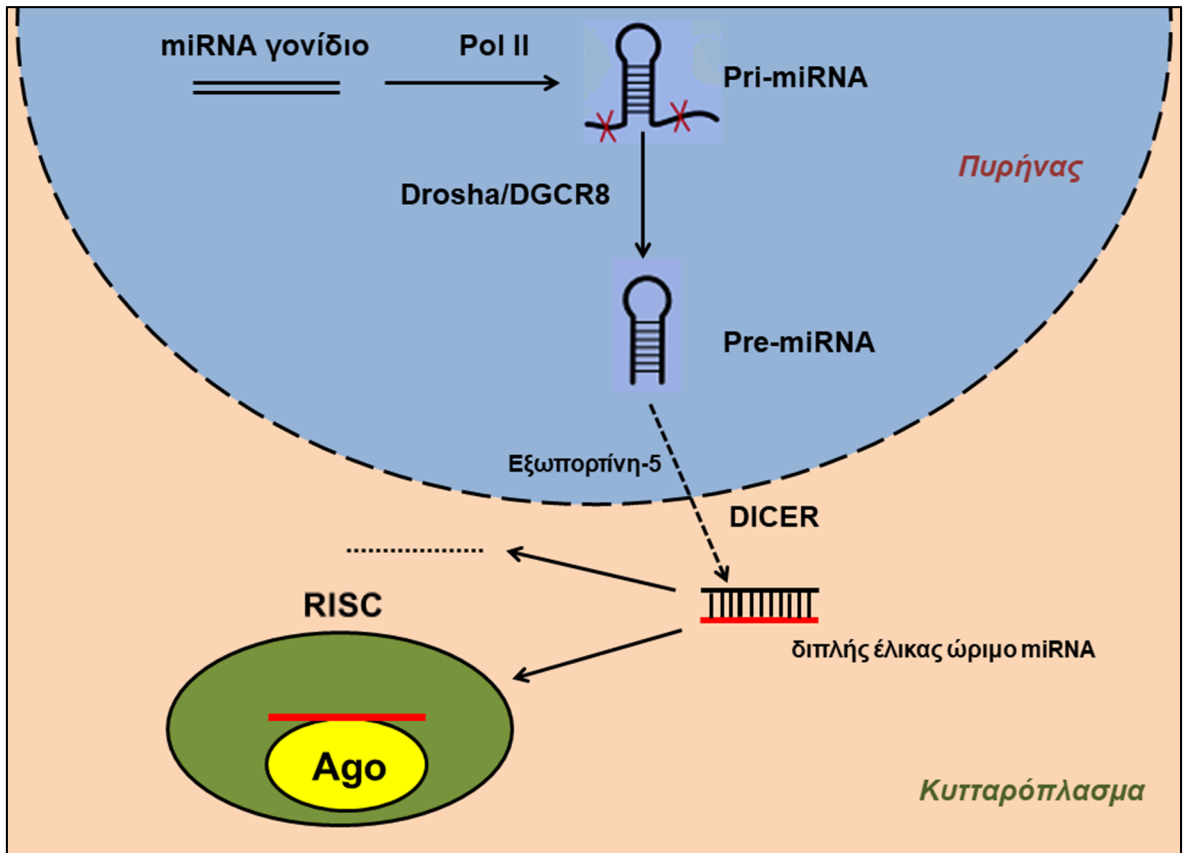
Τα microRNAs (miRNAs) πρωτοανακαλύφθηκαν το 1993 και συναντώνται ευρύτατα σε φυτά, ζώα και ανθρώπους. Πρόκειται για μικρά μόρια RNA, μεγέθους 18-25 ριβονουκλεοτιδίων, που δεν μεταγράφονται αλλά ρυθμίζουν τη μετα-μεταγραφική γονιδιακή έκφραση. Έχει βρεθεί ότι πάνω από 5300 γονίδια (περίπου το 30% του συνόλου των γονιδίων του ανθρώπου) είναι έμμεσοι στόχοι των miRNAs (17). Ως εκ τούτου, δεν είναι περίεργο που έχουν συσχετισθεί με πληθώρα κυτταρικών λειτουργιών, όπως τον κυτταρικό κύκλο, την κυτταρική διαφοροποίηση και την απόπτωση. Τα miRNAs ασκούν τη δράση τους συνδεδεμένα με στόχους-messengerRNA (mRNA), εμποδίζοντας τη μετάφρασή τους.

Τα miRNAs μεταγράφονται από το DNA, με τη βοήθεια της RNA πολυμεράσης II και III, σε μακριά προγονικά miRNAs (long primary miRNAs, «pri-miRNAs») και στη συνέχεια αποκόπτονται από δύο RNAάσες τύπου III (ενδονουκλεάσες - Drosha, DGCR8) εντός του πυρήνα. Προκύπτουν, έτσι, τα πρόδρομα miRNAs (precursor miRNAs, «pre-miRNAs»). Ακολουθώντας, μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα με την εξοπορτίνη-5 και εκεί υφίστανται νέα περικοπή (από τη DICER). Το τελικό διπλής έλικας ώριμο miRNA διασπάται και η μία έλικα αποδομείται άμεσα. Η άλλη έλικα ενώνεται με ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλοκο (RISC: RNA-Induced Silencing Complex) και συνδέεται, μέσω ομολογίας βάσεων, στο mRNA-στόχο, προκαλώντας τη σίγαση (silencing) του (**Εικόνα 1**).

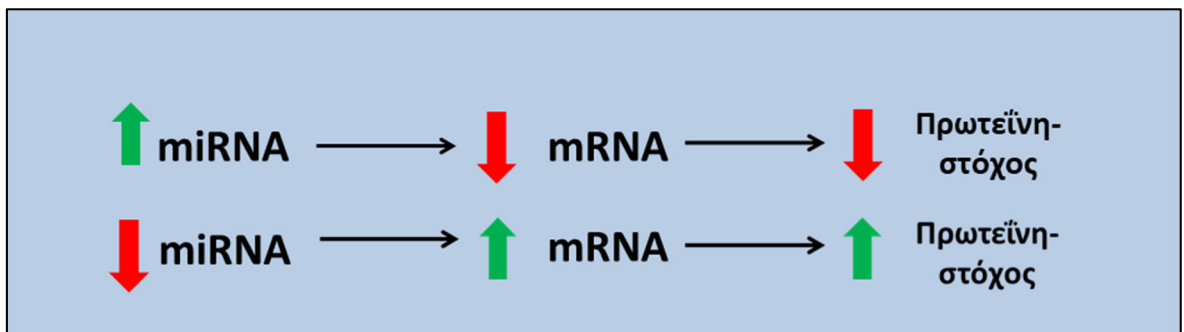
Το αποτέλεσμα της σύνδεσης miRNA-mRNA είναι ανάλογο του ποσοστού των κοινών βάσεων: μερική σύνδεση (μικρή αντιστοιχία βάσεων) οδηγεί σε μειωμένη μετάφραση του mRNA, ενώ τέλεια ομολογία βάσεων οδηγεί σε αποδόμηση του mRNA (18). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μείωση της παραγωγής από το κύτταρο μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Τα miRNAs μπορεί να ασκούν τη δράση τους έμμεσα, σε συνδυασμό με μεταγραφικούς παράγοντες, αλληλοεπιδρώντας με διάφορους τρόπους με αυτούς (19) (**Εικόνα 2**).

Ένα συγκεκριμένο miRNA μπορεί να συνδέεται με άνω του ενός mRNAs ενώ, αντίστροφα, ένα mRNA μπορεί να είναι στόχος πολλών miRNAs (20). Μέχρι

στιγμής, στον άνθρωπο έχουν ανακαλυφθεί σχεδόν 2000 miRNAs χωρίς, ωστόσο, να έχει προσδιοριστεί κάποιο ειδικό γονίδιο-στόχος σε πολλά εξ αυτών



**Εικόνα 1. Η βιογένεση του miRNA.** Μετά τη μεταγραφή του γονιδίου του miRNA από τις RNA πολυμεράσες προκύπτει το pri-miRNA, το οποίο αποκόπτεται στο 5' και 3' άκρο του από τις ενδονουκλεάσες Drosha και DGCR8 και προκύπτει το pre-miRNA. Το pre-miRNA μεταφέρεται με τη βοήθεια της εξωπορτίνης-5 εκτός του πυρήνα. Στο κυτταρόπλασμα περικόπτεται εκ νέου από τη DICER και προκύπτει το τελικό ώριμο διπλής έλικας miRNA. Οι δύο έλικες αποχωρίζονται με τη μία να αποδομείται και την άλλη να συνδέεται με την AGO και να σχηματίζει το σύμπλοκο RISC.



**Εικόνα 2. Η δράση του miRNA.** Το miRNA συνδέεται με αναλογία βάσεων σε mRNA-στόχους, εμποδίζοντας τη μετάφρασή τους και μειώνοντας έτσι την παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης.

## **1.2. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα**

### **1.2.1. Γενικά**

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια χρόνια συστηματική αυτοάνοση νόσος που προσβάλλει κυρίως τις αρθρώσεις, αλλά μπορεί να συνοδεύεται και από εξωαρθρικές εκδηλώσεις (π.χ. αγγειίτιδα, διάμεση πνευμονοπάθεια) (21). Η νόσος, αν δεν διαγνωστεί εγκαίρως και δεν εφαρμοστεί θεραπεία, οδηγεί σε μόνιμες παραμορφώσεις και αναπηρία επιδρώντας, έτσι, αρνητικά στην προσωπική, κοινωνική και εργασιακή ζωή των ασθενών, πλήττοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής τους. Επίσης, οι ασθενείς με ΡΑ εμφανίζουν συχνότερα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό διάφορες συννοσηρότητες, όπως καρδιαγγειακές νόσους (22), αιματολογικές κακοήθειες ή κακοήθειες συμπαγών οργάνων, κατάθλιψη, ινομυαλγία κ.α., γεγονός που αυξάνει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα αυτών των ασθενών. Η ΡΑ θεωρείται πλέον ξεχωριστός παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η στεφανιαία νόσος, η δυσλιπιδαιμία, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης και η χρόνια νεφρική νόσος.

### **1.2.2. Επιδημιολογία**

Από επιδημιολογικής άποψης, η ΡΑ προσβάλλει το 0,5-1% του πληθυσμού και έχει παγκόσμια κατανομή, σε όλες τις φυλές. Προσβάλλει πιο συχνά γυναίκες, με χρόνο έναρξης κυρίως την 3η με 5η δεκαετία της ζωής.

### **1.2.3. Παθοφυσιολογία**

Συγγενείς α' βαθμού ασθενών με ΡΑ βρίσκονται σε τριπλάσιο τουλάχιστον κίνδυνο για ανάπτυξη ΡΑ σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, ενώ και μελέτες με μονωζυγωτικούς δίδυμους έχουν δείξει ότι στο 50% νοσούν ταυτόχρονα και οι δύο από ΡΑ (23). Σε αναλύσεις γονιδιώματος έχουν βρεθεί δεκάδες επίτοποι που συνδέονται με νόσηση από ΡΑ, οι περισσότεροι από τους οποίους συνδέονται με ανοσολογικούς μηχανισμούς. Ο πιο τεκμηριωμένος επίτοπος είναι το HLA-DRB1 (23). Όπως θα αναφερθεί και παρακάτω, πολυμορφισμοί σε επίτοπους που κωδικοποιούν για διάφορα microRNAs έχουν, επίσης, συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΡΑ. Συνεπώς, φαίνεται ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση για ανάπτυξη ΡΑ, η οποία, όμως, δεν είναι επαρκής για την εκδήλωση της νόσου.



Οι επιγενετικοί μηχανισμοί φαίνεται να κατέχουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεση της ΡΑ, συνδέοντας την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου με τη γενετική προδιάθεση και την τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης (24). Πολλές επιγενετικές και μετα-μεταφραστικές αλλαγές έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ΡΑ (24, 25). Συγκεκριμένα, έχουν διαπιστωθεί διαταραχές της ακετυλίωσης των ιστονών, της μεθυλίωσης του DNA, ενώ αλλαγές στα επίπεδα πολλών miRNAs έχουν, επίσης, ανιχνευθεί και μάλιστα σε αρθρικούς ινοβλάστες, Τ λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα/μακροφάγα κ.α.

Πολλαπλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί ότι συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ΡΑ. Περιοδοντική λοίμωξη από *Porphyromonas gingivalis* μπορεί να ενέχεται στην παθογένεια της ΡΑ, μέσω «κιτρουλλινίωσης» πεπτιδίων και δημιουργίας αντισωμάτων έναντι αυτών (αντισώματα έναντι κιτρουλλινιωμένων πεπτιδίων – ACPAs, γνωστών και ως “anti-CCP”) (26) [27]. Το κάπνισμα έχει, επίσης, συσχετισθεί με ανάπτυξη ACPAs. Διάφορες θεωρίες συνδέουν λοιμογόνους παράγοντες (π.χ. EBV, *Escherichia coli*) με την ανάπτυξη ΡΑ, με βάση την υπόθεση της μοριακής μίμησης. Επίσης, αλλαγές στη χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας και, κυρίως, του εντέρου έχουν βρεθεί σε ασθενείς με ΡΑ (27). Τέλος, η παχυσαρκία έχει συσχετισθεί με μικρή αύξηση του κινδύνου για ανάπτυξη ΡΑ (28).

Τα ACPAs συνδέονται σε κιτρουλλινιωμένα αυτο-αντιγόνα και οδηγούν στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος (29). Ο ρευματοειδής παράγων (rheumatoid factor - RF), εκτός από το γεγονός ότι συμβάλλει σε αυτή την ενεργοποίηση, κινητοποιεί και την έμφυτη ανοσία (μακροφάγα) (29). Η απώλεια της ανοσολογικής ανοχής οδηγεί σε διήθηση του αρθρικού υμένα από ενεργοποιημένα κύτταρα της έμφυτης (μονοκύτταρα/μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα κ.α.) και της επίκτητης ανοσίας (Th1 λεμφοκύτταρα, Β-λεμφοκύτταρα/πλασματοκύτταρα κ.α.). Επιπρόσθετα, οι υμενικοί ινοβλάστες (Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts – RASFs) αποκτούν έναν πιο διηθητικό, μεταναστευτικό και επιθετικό φαινότυπο, οδηγώντας σε υπερπλασία του αρθρικού υμένα και νεοαγγειογένεση. Η τοπική υπερπαραγωγή κυτοκινών, εκτός από τη διαιώνιση του φαύλου κύκλου της τοπικής φλεγμονής, οδηγεί σε αυξημένο καταβολισμό των χονδροκυττάρων και αύξηση της οστεοκλαστογένεσης, με αποτέλεσμα απώλεια χόνδρου, παρα-αρθρικές οστικές διαβρώσεις και συστηματική οστεοπόρωση. Στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα έχουν

βρεθεί υπερεκφρασμένα πολλά μόρια: TNFα, IL-1, IL-6, RANKL, GM-SCF, διάφορες μεταλλοπρωτεΐνες κ.α.

Πρέπει, να σημειωθεί ότι στη PA παρατηρείται μια διαταραχή στη σύσταση του πληθυσμού των CD4+ T λεμφοκυττάρων, με μείωση των T ρυθμιστικών (Tregs) και αύξηση των φλεγμονωδών Th17 (30, 31). Τα τελευταία υπερπαράγουν IL-17, η οποία προωθεί την απελευθέρωση TNFα και IL-1 στο αίμα και το αρθρικό υγρό, διαιωνίζοντας τη φλεγμονή. Μέρος αυτού του καταρράκτη φλεγμονής διαμεσολαβείται μέσω των Toll-like Receptors (TLRs). Στη PA έχει βρεθεί αυξημένη έκφραση διαφόρων TLRs στους αρθρικούς ιστούς, ενώ η σηματοδότηση μέσω των TLRs στους RASFs συνδράμει σε πολλαπλές παθοφυσιολογικές διεργασίες της PA, όπως η έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και η οστεοκλαστογένεση (32).

Εν κατακλείδι, γενετικώς προδιαθετημένα άτομα υπό την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων υφίστανται επιγενετικές αλλαγές και σταδιακά επέρχεται ρήξη της ανοσολογικής ανοχής (θεωρία «πολλαπλών χτυπημάτων»). Η επακόλουθη συστηματική αυτοάνοση δραστηριότητα διαμεσολαβείται κυρίως από T λεμφοκύτταρα και αρχικά είναι υποκλινική. Με την πάροδο του χρόνου καθίσταται κλινικά έκδηλη και προσβάλλει κυρίως τις αρθρώσεις. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μια χρόνια συστηματική φλεγμονή που προκαλεί υπερτροφία στον αρθρικό υμένα και σταδιακή διάβρωση του αρθρικού χόνδρου και του παρακείμενου οστού, οδηγώντας σε μόνιμες παραμορφώσεις των προσβεβλημένων αρθρώσεων.

#### **1.2.4. Παθολογοανατομία**

Ο φυσιολογικός αρθρικός υμένας αποτελείται από 2-3 κυτταρικές στιβάδες αποτελούμενες από αρθρικούς ινοβλάστες και μακροφάγα. Στις προσβεβλημένες αρθρώσεις των ασθενών με PA παρατηρείται υπερτροφία του αρθρικού υμένα, αυξημένη αιμάτωση λόγω νεοαγγειογένεσης και κυτταρικές διηθήσεις, κυρίως μακροφάγων, λεμφοκυττάρων και υμενικών ινοβλαστών. Ο υπερτροφικός υμένας ονομάζεται ιστορικά «rannus» και διηθεί τον παρακείμενο αρθρικό χόνδρο και το υποχόνδριο και παρα-αρθρικό οστόν.

### **1.2.5. Κλινική Εικόνα**

Από κλινική σκοπιά, η ΡΑ συνήθως παρουσιάζεται ως συμμετρική πολυαρθρίτιδα κυρίως μικρών, αλλά και μεγάλων, αρθρώσεων. Παρά ταύτα, δεν αποκλείεται η εμφάνισή της ως ολιγο- ή μονο-αρθρίτιδα, ούτε και η ασυμμετρία στην προσβολή των αρθρώσεων. Η έναρξή της είναι υποξεία ή χρόνια με προοδευτική επιδείνωση και συχνά αθροιστική προσβολή. Συνοδεύεται από πρωινή δυσκαμψία διάρκειας άνω των τριάντα λεπτών. Σημαντικό είναι ότι η ΡΑ φείδεται των άπω μεσοφαλαγγικών αρθρώσεων των άκρων χειρών και άκρων ποδών, της θωρακικής και οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, καθώς και των ιερολαγονίων αρθρώσεων. Κατά την έναρξη της νόσου και κατά τις εξάρσεις, οι προσβεβλημένες αρθρώσεις παρουσιάζονται οιδηματώδεις, επώδυνες, με πιθανή συνοδή θερμότητα. Παρατηρείται σημαντική μείωση του εύρους παθητικής ή ενεργητικής κίνησης και ευαισθησία κατά την ψηλάφηση. Με την πάροδο των χρόνων, αν η νόσος αφεθεί χωρίς θεραπεία, παρατηρούνται μόνιμες παραμορφώσεις, μέχρι και αγκύλωση ή υπεξαρθρήματα των προσβεβλημένων αρθρώσεων.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι, για προγνωστικούς, κυρίως, λόγους, η ΡΑ διαχωρίζεται σε «οροθετική» και «οροαρνητική». Η ανίχνευση RF ή ACPA στον ορό του ασθενή κατατάσσει αυτόν ως πάσχοντα από «οροθετική ΡΑ». Η οροθετική ΡΑ, που είναι και η συχνότερη μορφή, έχει βαρύτερη πρόγνωση, με ταχύτερη πορεία, περισσότερο αυξημένους δείκτες φλεγμονής και συχνότερες εξωαρθρικές εκδηλώσεις, υποδηλώνοντας έτσι συστηματική φλεγμονή μεγαλύτερης έντασης σε σχέση με την «οροαρνητική» ΡΑ (21). Επίσης, ορισμένα φάρμακα φαίνεται να έχουν διαφορετικό αποτέλεσμα ανάλογα με τον τύπο της ΡΑ (οροθετική ή οροαρνητική).

### **1.2.6. Διάγνωση & Διαφορική Διάγνωση**

Η διάγνωση της ΡΑ στηρίζεται στο συμβατό ιστορικό, τη σημειολογία των αρθρώσεων που παρατηρείται κατά την κλινική εξέταση, καθώς και σε ορισμένα ευρήματα από τον παρακλινικό έλεγχο. Όσον αφορά τα εργαστηριακά ευρήματα, παρατηρείται αύξηση των δεικτών φλεγμονής (ΤΚΕ, CRP) που μπορεί να συνδυάζεται με λευκοκυττάρωση, θρομβοκυττάρωση και αναιμία. Στις περισσότερες περιπτώσεις ανιχνεύονται αυξημένοι τίτλοι RF ή/και ACPA στον ορό του ασθενούς. Εκ του ακτινολογικού ελέγχου, οι απλές ακτινογραφίες στα αρχικά στάδια δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερα ευρήματα, εκτός ίσως από παρα-αρθρική οστεοπόρωση. Με την εξέλιξη της νόσου παρουσιάζεται συμμετρική στένωση του μεσάρθριου

διαστήματος μέχρι πλήρους εξάλειψής του και οστικές διαβρώσεις. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος (U/S) αναδεικνύει την υμενίτιδα των προσβεβλημένων αρθρώσεων, ενώ επιτρέπει και τη βαθμολόγησή της. Αν υπάρχει σοβαρό διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα η μαγνητική τομογραφία (MRI) μπορεί να ξεκαθαρίσει αν τα συμπτώματα οφείλονται σε φλεγμονή του αρθρικού υμένα ή σε άλλη τοπική παθολογία. Να σημειωθεί ότι ο έλεγχος με U/S ή MRI είναι πιο ευαίσθητος από την κλινική εξέταση στην ανάδειξη της φλεγμονής του αρθρικού υμένα, ενώ η ανεύρεση υμενικής φλεγμονής σε U/S ή MRI είναι προγνωστικός δείκτης δημιουργίας οστικών διαβρώσεων (33).

Η διαφορική διάγνωση της PA περιλαμβάνει τα αίτια της φλεγμονώδους αρθρίτιδας (οροαρνητικές σπονδυλαρθρίτιδες, φλεγμονώδης οστεοαρθρίτιδα, κρυσταλλογενείς αρθρίτιδες, λοιμώδης αρθρίτιδα, συστηματικά νοσήματα του συνδετικού ιστού, κ.α.).

### **1.2.7. Θεραπεία**

Η σύγχρονη θεραπευτική αντιμετώπιση της PA, σύμφωνα με τις επίσημες οδηγίες, βασίζεται στη λογική του “treat to target” (34). Στόχος είναι να επιτευχθεί όσο το δυνατόν συντομότερα ύφεση ή χαμηλή ενεργότητα της νόσου, όπως αυτές ορίζονται με βάση ειδικά εργαλεία αξιολόγησης, ώστε να προληφθούν οι μόνιμες βλάβες στις αρθρώσεις, οι οποίες είναι μη αναστρέψιμες. Επίσης, τις τελευταίες τρεις δεκαετίες γίνεται προσπάθεια να ελαχιστοποιείται η δόση κορτικοστεροειδών στη θεραπεία της PA, λόγω των πολλαπλών μακροπρόθεσμων ανεπιθύμητων ενεργειών. Συγκεκριμένα, προβλέπεται «η μικρότερη δόση για το μικρότερο χρονικό διάστημα». Ο ακρογωνιαίος λίθος της 1ης γραμμής της φαρμακευτικής αντιμετώπισης είναι η μεθοτρεξάτη, που ανήκει στην κατηγορία των συμβατικών τροποποιητικών της νόσου φαρμάκων (conventional Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs – cDMARDs). Επί αποτυχίας ή δυσανεξίας μονοθεραπείας ή συνδυασμού μεθοτρεξάτης ή άλλων cDMARDs (λεφλουνομίδη, σουλφασαλαζίνη, υδροξυχλωροκίνη) ακολουθεί προσθήκη βιολογικού παράγοντα (biologic DMARD-bDMARD), κυρίως αναστολέα TNFα (“antiTNF” - etanercept, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab, infliximab), αλλά και άλλων μονοκλωνικών αντισωμάτων (“non-antiTNF” - abatacept, tocilizumab, rituximab). Τα τελευταία χρόνια έχουν προστεθεί στη θεραπευτική φαρέτρα και οι αναστολείς JAK κινασών (tofacitinib, baricitinib, κ.α.). Η καταλληλότερη φαρμακευτική αγωγή επιλέγεται με διάφορα κριτήρια, αλλά βασικός γνώμονας παραμένει πάντα η επίτευξη ύφεσης ή

χαμηλής ενεργότητας νόσου. Η θεραπεία είναι χρόνια και συνεχής, καθώς η διακοπή της οδηγεί συχνά σε υποτροπή της νόσου. Παρόλα αυτά, γίνονται προσπάθειες μείωσης της δόσης ή αύξησης των μεσοδιαστημάτων λήψης του φαρμάκου σε ασθενείς σε μακροχρόνια ύφεση. Παράλληλα με τη φαρμακευτική αγωγή, όταν η νόσος δεν βρίσκεται σε έξαρση ενθαρρύνεται η διενέργεια ασκήσεων και φυσικοθεραπείας με σκοπό τη διατήρηση της λειτουργικότητας του ασθενούς και την πρόληψη της αναπηρίας.

Στην παρακολούθηση των ασθενών με PA χρησιμοποιούνται διάφορα «εργαλεία» στα οποία αποτυπώνεται η ενεργότητα της νόσου. Παρότι έχει προταθεί μια πλειάδα τέτοιων μέτρων, το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είναι το DAS28. Στον υπολογισμό του λαμβάνονται υπόψη οι δείκτες φλεγμονής (ΤΚΕ ή CRP), η γνώμη του ασθενούς, ο αριθμός των διογκωμένων αρθρώσεων και ο αριθμός των ευαίσθητων αρθρώσεων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ένας δεκαδικός αριθμός που κατατάσσει τον ασθενή ως έχοντα ανενεργή, μικρής, μέτριας ή μεγάλης ενεργότητας PA και διαδραματίζει συμβουλευτικό, για τον κλινικό ιατρό, ρόλο.

Θα πρέπει να σημειωθεί, τέλος, ότι μεγάλη σημασία πρέπει να δίνεται στην αντιμετώπιση των συννοσηροτήτων. Η διατήρηση υψηλής ενεργότητας νόσου αυξάνει τη νοσηρότητα των ασθενών με PA, ενώ η επιτυχής θεραπεία της PA φαίνεται να τη μειώνει, τουλάχιστον όσον αφορά τα καρδιαγγειακά συμβάματα[34]. Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να αναδεικνύεται η σημασία της στενής ρύθμισης των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (διακοπή καπνίσματος, απώλεια βάρους στους παχύσαρκους, ρύθμιση αρτηριακής υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, σακχαρώδους διαβήτη κλπ.) στη μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ασθενείς με PA.

## 2. microRNA και ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΓΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Είναι γνωστό ότι στους ασθενείς με PA υπάρχει, σε άλλοτε άλλο βαθμό, ένα προϋπάρχον γενετικό υπόβαθρο που προδιαθέτει στην ανάπτυξη της νόσου. Μέρος της έρευνας που γίνεται γύρω από διάφορους επιτόπους που πιθανώς ενέχονται σε αυτή τη γενετική προδιάθεση αφορά και γονίδια που κωδικοποιούν για miRNAs. Διαχρονικά, έχουν γίνει μελέτες που αφορούν διάφορους πληθυσμούς σε πολλά σημεία της γης.

Οι πρώτες μελέτες έγιναν σε κινεζικούς πληθυσμούς της φυλής Χαν. Μελετήθηκαν δύο μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphisms - SNPs): οι **rs2910164 G>C** και **rs3746444 T>C** στο **mir-146a** και **mir-499**, αντιστοίχως. Κανένας από τους δύο SNPs δεν βρέθηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη PA (35), αλλά οι ετεροζυγώτες CT για τον πολυμορφισμό rs3746444 που νοσούσαν από PA είχαν αυξημένα επίπεδα ACPAαντισωμάτων και δεικτών φλεγμονής (TKE, CRP) σε σχέση με τους ομοζυγώτες CC και TT (35). Αργότερα, η ίδια ερευνητική ομάδα επαλήθευσε, πάλι σε κινεζικό πληθυσμό, την απουσία συσχέτισης μεταξύ του πολυμορφισμού rs3746444 T>C του miR-499 και του κινδύνου ανάπτυξης PA (36). Η προαναφερθείσα έλλειψη συσχέτισης μεταξύ του πολυμορφισμού rs2910164 G>C του miR-146a και του κινδύνου ανάπτυξης PA επιβεβαιώθηκε και σε μεταγενέστερη μελέτη του *Xindie* και συν. (2015), επίσης σε κινεζικό πληθυσμό, με την υποσημείωση ότι η ομοζυγωτία GG ενδέχεται να συσχετίζεται με ανάπτυξη PA στις γυναίκες (37).

Ακολούθησε η μελέτη των προαναφερθέντων SNPs (rs2910164 G>C και rs3746444 T>C) σε Ιρανικό πληθυσμό. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από 104 ασθενείς με PA και 110 υγιείς εθελοντές, οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι ο μελετηθείς SNP του pre-miR-499 συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης PA, σε αντίθεση με εκείνον του pre-miR-146a (38).

Η συχνότητα του SNP rs2910164 G>C (miR-146a) και του rs3746444 T>C (miR-499) εξετάστηκε και σε μια μελέτη με γυναίκες ασθενείς με PA στην Αίγυπτο (39). Σε σχέση με τις υγιείς μάρτυρες, οι ετεροζυγώτες CT για τον rs3746444 T>C παρουσίασαν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης PA, είχαν βαρύτερη νόσο σε σχέση

με τους ομοζυγώτες CC και TT. Αντιθέτως, ο πολυμορφισμός του miR-146a (rs2910164 G>C), ούτε σε αυτή τη μελέτη συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης PA ή με την ενεργότητα της νόσου. Επιπρόσθετα, σε μια άλλη μελέτη με Αιγύπτιους ασθενείς, συγκεκριμένοι γονότυποι του SNP rs3746444(A/G) του miRNA-499 σε συνδυασμό με συγκεκριμένους γονοτύπους του SNP **rs11614913 (C/T)** του **miR-196a2** βρέθηκαν να σχετίζονται με αυξημένο ή μειωμένο κίνδυνο για ανάπτυξη PA, με αυξημένη δραστηριότητα νόσου (αυξημένο DAS28 – γονότυπος AA) και αυξημένη πιθανότητα τοξικότητας της μεθοτρεξάτης (γονότυπος AA) (40). Πρόσφατα, πάλι σε Αιγύπτιους, βρέθηκε ότι το αλληλίο G του SNP rs2910164 (miRNA-146a) και το αλληλίο C του SNP rs3746444 (miRNA-499) συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο νόσησης από PA και η αναζήτησή τους προτείνεται από τους συγγραφείς να χρησιμοποιείται για τη διάγνωση της PA (41, 42).

Όταν ο πολυμορφισμός rs2910164 G>C του miR-146a μελετήθηκε σε Πολωνούς που πάσχουν από PA, επίσης δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών με PA και υγιών εθελοντών (43). Τελευταία, ο *Aleman-Avila* και συν. (2017) μελέτησαν 3 -σχετιζόμενους με miRNAs- SNPs σε Μεξικανούς ασθενείς με PA. Συγκεκριμένα, δεν βρήκαν διαφορά στην ανεύρεση των SNPs rs2910164 G/C (pre-miR-146a), rs11614913 C/T (pre-miR-196a-2) και rs3746444 A/G (pre-miR-499) μεταξύ ασθενών με PA και υγιών μαρτύρων (44).

Τέσσερις μετα-αναλύσεις εξέτασαν αν σχετίζονται οι προαναφερθέντες πολυμορφισμοί του miR-146a και του miR-499 με την ανάπτυξη PA (45-48). Όλες τους συγκλίνουν ότι ο rs2910164 G/C (miR-146a) δεν συνδέεται με ανάπτυξη PA, ενώ διαφορετικοί γονότυποι του rs3746444 A/G (miR-499) συνδέονται είτε με αυξημένο είτε με μειωμένο κίνδυνο για PA.

Μπορεί ο SNP rs2910164 G/C του miR-146a να μην έχει βρεθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο για ανάπτυξη PA σε όσους τον φέρουν, αλλά φαίνεται ότι μπορεί να εμπλέκεται με άλλους τρόπους στην παθογένεια της PA. Σε μία μελέτη με Ιταλούς ασθενείς με διαγνωσμένη RA, το αλληλίο κυτοσίνης (C) του rs2910164 (miR-146a) συνδέθηκε με απουσία RF (δηλαδή με «οροαρνητική» PA) (49). Εκτός αυτού, η κα *Χατζηκυριακίδου* και συν. (2010) μελετώντας 136 Έλληνες ασθενείς με PA και 147 υγιείς μάρτυρες διαπίστωσε στατιστικά σημαντική διαφορά του πολυμορφισμού **rs3027898 (A/C)** του γονιδίου της **IRAK1**, που είναι πρωτεΐνη-στόχος του miR-146a

(50). Αυτή η συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού του IRAK1 και της προδιάθεσης για PA επιβεβαιώθηκε και από άλλους ερευνητές αργότερα (36, 42, 48). Παρόμοια συσχέτιση έχει βρεθεί και για τον πολυμορφισμό **rs1748033** του γονιδίου της **PADI4**, που είναι μια από τις πρωτεΐνες-στόχους του miR-499 (42).

Είναι κοινώς παραδεκτό ότι η PA προσβάλλει κυρίως γυναίκες. Διάφορες θεωρίες έχουν διατυπωθεί γύρω από αυτό το δεδομένο, με κύριο σημείο αναφοράς τη δράση των οιστρογόνων. Όταν μελετήθηκε στα μονοπύρηνα του περιφερικού αίματος (PBMCs) η έκφραση miRNAs των οποίων τα γονίδια εδράζονται στο Χ χρωμόσωμα, διαπιστώθηκε διαφορετική έκφραση των **miR-92a**, **miR-98**, **miR-106a**, **miR-221**, **miR-222**, και **miR-532**, ανάλογα το φύλο και την νόσηση (ή όχι) από PA (51). Τα miRNA αυτά έχουν βρεθεί αυξημένα σε διάφορα κύτταρα σε ασθενείς με PA, όπως θα αναφερθεί στα επόμενα κεφάλαια. Τα παραπάνω ευρήματα προσφέρουν μια διαφορετική οπτική στη γενετική προδιάθεση για τη PA, συνδέοντας τα miRNAs των οποίων τα γονίδια εδράζονται στο χρωμόσωμα Χ με την πιθανότητα νόσησης.

Τέλος, μια νέα εποχή στη γενετική και την επιγενετική έχει ανοίξει με την εισαγωγή των genome-wide association studies (GWAS). Οι GWAS μελετούν πολυμορφισμούς στο σύνολο του γονιδιώματος. Η εφαρμογή τους στη ρευματοειδή αρθρίτιδα έδειξε τη σημασία των δικτύων miRNA-γονιδίων «στόχων» (σε σημαντικότερο βαθμό σε σχέση με άλλες ασθένειες) (52), αλλά και βοήθησε στην ανακάλυψη νέων γονιδίων που σχετίζονται με προδιάθεση για PA, κάποια εκ των οποίων κωδικοποιούν για miRNAs (συγκεκριμένα των γονιδίων του **miR-5708** και του **miR-6716**) (53).

Όπως συνάγεται εκ των ανωτέρω, ο πολυμορφισμός rs2910164 (G/C) του γονιδίου του **miR-146a** δεν φαίνεται να προδιαθέτει σε ανάπτυξη PA, σε αντίθεση με συγκεκριμένο πολυμορφισμό του γονιδίου της **IRAK-1** (πρωτεΐνης-στόχου του miR-146a). Επίσης, ο πολυμορφισμός rs3746444 (A/G) του γονιδίου του **miR-499** ίσως να συνδέεται με την ανάπτυξη PA, ενώ φαίνεται να έχει σχέση και με τη βαρύτητα της νόσου. Τέλος, ανεπαρκή είναι, προς το παρόν, τα δεδομένα για τον πολυμορφισμό rs11614913 (C/T) του **miR-196a2** (Πίνακας 1).

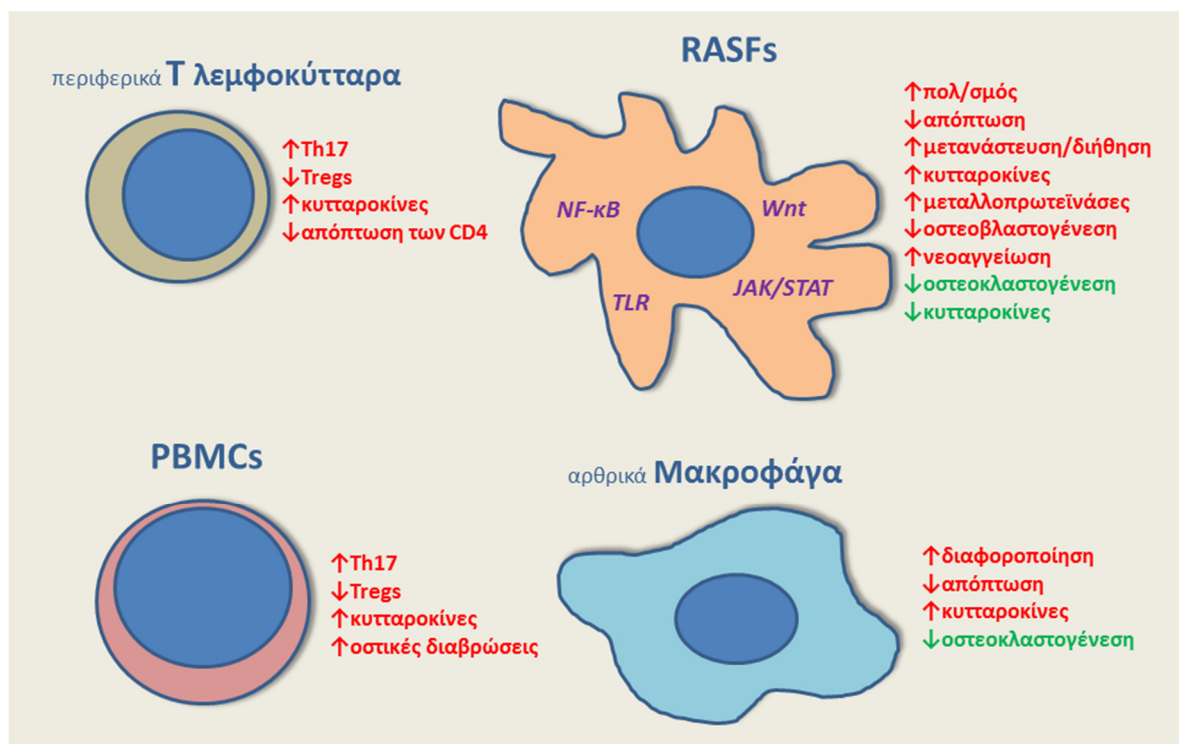


<b>Γονίδιο miRNA</b>	<b>Συσχέτιση με αυξημένο κίνδυνο για PA</b>
miR-146a	Όχι
miR-196a2	Αμφιλεγόμενη
miR-499	Ναι
miR-5708	Πιθανή
miR-6716	Πιθανή

**Πίνακας 1.** Γονίδια που κωδικοποιούν για miRNA και σχέση πολυμορφισμών τους με πιθανότητα ανάπτυξης PA.

### 3. ΤΑ microRNAs ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Λαμβάνοντας υπόψη δεδομένα από πολλές μελέτες, καθίσταται σαφές ότι στους ασθενείς με PA τα διάφορα κύτταρα που συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου (RASFs, T λεμφοκύτταρα, υμενικά μακροφάγα κ.α.) παρουσιάζουν ξεχωριστό συνδυασμό διαταραχών miRNA το καθένα, ενώ υπάρχει και διαφορετικό πρότυπο διαταραχών miRNA μεταξύ περιφερικού αίματος και αρθρικού υγρού (54, 55). Άλλα miRNAs ανευρίσκονται αυξημένα, ενώ άλλα ανευρίσκονται σε μειωμένα επίπεδα, σε σχέση με τα επίπεδά τους στους υγιείς. Ορισμένες διαταραχές miRNAs συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της νόσου με ποικίλους τρόπους, ενώ κάποια miRNAs μπορεί να αυξάνονται ως αντισταθμιστικός μηχανισμός του οργανισμού απέναντι στη φλεγμονή και τις συνέπειές της (56). Στην **Εικόνα 3** φαίνεται σχηματικά η επίδραση των miRNAs στα βασικότερα κύτταρα που συμμετέχουν στην παθογένεια της PA, όπως θα περιγραφούν στα επόμενα κεφάλαια.



**Εικόνα 3.** Τα αποτελέσματα της επίδρασης των αλλαγών των miRNAs στα βασικά κύτταρα που συμμετέχουν στην παθογένεια της PA. Στους RASFs τα κύρια ενδοκυττάρια μονοπάτια που επηρεάζονται από αυτές τις αλλαγές είναι εκείνα των Wnt, του NF-κB, των TLRs και του JAK/STAT. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται οι επιζήμιες αλλαγές, ενώ με πράσινο χρώμα απεικονίζονται οι αντιρροπιστικές μεταβολές που προκαλούνται. PBMCs: Peripheral Blood Mononuclear Cells, RASFs: Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts, Th17: T helper 17, Tregs: T regulatory cells.

### 3.1. Από την Υποκλινική Συστηματική Φλεγμονή στην Κλινική Εκδήλωση

Προ της κλινικής έκφρασης της PA προηγείται μια χρόνια υποκλινική συστηματική φλεγμονή, ενώ παρουσία ACPAs στον ορό παρατηρείται στους μισούς ασθενείς με PA ακόμα και πάνω από 5 χρόνια πριν την κλινική εμφάνιση αρθρίτιδας (57). Επίσης, άτομα με αυξημένα επίπεδα ACPAs και μη ειδικά συμπτώματα από το μυοσκελετικό (χωρίς αρθρίτιδα) έχουν 35-43% κίνδυνο ανάπτυξης PA (58-60). Μελετώντας το miRNA προφίλ 24 τέτοιων ατόμων «υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη PA» (με θετικά ACPAs και μη ειδικά μυοσκελετικά συμπτώματα) ο *Ouboussad* και συν. (2017) έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των **miR-22**, **miR-38** και **miR-486** ήταν αυξημένες στον ορό εκείνων που τελικά ανέπτυξαν PA, σε σχέση με εκείνους που δεν ανέπτυξαν (61). Ειδικά για το **miR-22**, όλοι οι μετέπειτα ασθενείς είχαν αυξημένα επίπεδα από την έναρξη της παρακολούθησης και, συνεπώς, οι συγγραφείς προτείνουν το συγκεκριμένο miRNA σαν δείκτη πρόγνωσης ανάπτυξης PA σε άτομα «υψηλού κινδύνου».

Προσπαθώντας να ρίξουν φως στην υποκλινική φάση της νόσου, ο *Anaparti* και συν. (2017) συνέκριναν ασθενείς με «οροθετική» PA, πρώτου βαθμού ασυμπτωματικούς συγγενείς με θετικά ACPAs και υγιείς εθελοντές (62). Στις δύο πρώτες ομάδες βρέθηκε **αυξημένος τίτλος miR-26b, miR-103a, miR-146a και miR-155**, καθώς και **μειωμένος τίτλος miR-346** στο περιφερικό αίμα. Δηλαδή, οι ασθενείς και οι «οροθετικοί» υγιείς συγγενείς τους μοιράζονται ένα κοινό προφίλ διαταραχών miRNA στο περιφερικό τους αίμα. Ειδικά για το **miR-103a**, λόγω εύρεσης του σε σταθερά αυξημένα επίπεδα για μεγάλο χρονικό διάστημα και στους ασυμπτωματικούς συγγενείς αλλά και τους ασθενείς, οι ερευνητές προτείνουν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν προγνωστικός δείκτης ανάπτυξης PA. Να σημειωθεί, τέλος, ότι η αύξηση του miR-103a στους συγγενείς των ασθενών συνδυάστηκε με μειωμένα επίπεδα mRNA των πρωτεϊνών DICER1, AGO1, CREB1, DAPK1 και TP53, οι οποίες συμμετέχουν σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες και στη ρύθμιση μονοπατιών που έχουν σχέση με το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων, τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων και τη σηματοδότηση της ινσουλίνης.

## 3.2. microRNAs και Αυτοαντισώματα

### 3.2.1. microRNAs και *Porphyromonas Gingivalis*

Η περιοδοντίτιδα από *Porphyromonas gingivalis* έχει εικαστεί ότι συνδέεται με την ανάπτυξη ACPA αντισωμάτων. Παρότι δεν έχει βρεθεί κάποια μεταβολή σε miRNA που να σχετίζεται με αυτή τη διεργασία, η λοίμωξη από *P. gingivalis* δεν αποκλείεται να οδηγεί σε προφλεγμονώδεις αλλαγές στο miRNA προφίλ ορισμένων κυττάρων. Ο *Ouhara* και συν. (2014) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδα **miR-584** στα επιθηλιακά κύτταρα που έχουν διεγερθεί από την *P. gingivalis* (63). Η αύξηση αυτή οδηγεί σε μείωση του υποδοχέα της λακτοφερρίνης (LfR) στα κύτταρα αυτά και επακόλουθη αύξηση της έκκρισης της προφλεγμονώδους IL-8, καθώς η λακτοφερρίνη αναστέλλει την έκκριση της IL-8.

### 3.2.2. microRNAs και ACPA Αντισώματα

Τα ACPAs, ως γνωστόν, συμμετέχουν στην παθογένεση της PA. Έχει δειχθεί ότι τα ACPAs προκαλούν στατιστικά σημαντική μείωση του miRNA **let-7a** στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος ασθενών με PA, αυξάνοντας την παραγωγή K-Ras, με αποτέλεσμα ενισχυμένη φωσφορυλίωση των ERK1/2 και JNK (64). Αυτές οι αλλαγές οδηγούν, τελικά, σε αυξημένη έκκριση της προφλεγμονώδους IL-1β από τα μονοκύτταρα. Ενδιαφέρουσα, επίσης, είναι η παρατήρηση των ερευνητών ότι το let-7a ήταν μειωμένο μόνο στα μονοκύτταρα των ασθενών με «οροθετική» PA και όχι στα μονοκύτταρα εκείνων που είχαν φυσιολογικά επίπεδα RF (64).

## 3.3. Πολλαπλά Ενδοκυττάρια Μονοπάτια Επηρεάζονται Κατά την Παθογένεση της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας

Στενή σχέση με τα miRNAs φαίνεται πως έχουν τα lncRNAs. Τα lncRNAs είναι ριβονουκλεοτίδια μήκους άνω των 200 βάσεων που εντάσσονται στα “μη-κωδικοποιόντα RNAs” (non-coding RNAs) και ασκούν ρυθμιστικό ρόλο στη μεταγραφή και τη μετάφραση. Εκτός αυτού, φαίνεται ότι αλλαγές στα lncRNAs συναντώνται και σε πολλές νόσους. Ένας από τους τρόπους δράσης των lncRNAs είναι να λειτουργούν ως «σφουγγάρια» που συγκεντρώνουν miRNAs, μεταβάλλοντας, έτσι, την επίδραση των miRNAs στα mRNA-στόχους. Να σημειωθεί ότι τα lncRNAs φαίνεται να έχουν και απευθείας δράση σε πολλά mRNAs. Εν

κατακλείδι, πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός δικτύου lncRNA–miRNA–mRNA που ασκεί επιγενετική ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων σε ένα κύτταρο (θεωρία “ανταγωνιστικού ενδογενούς RNA” – competitive endogenous RNA - ceRNA) (65).

Σε αυτή τη βάση, ο *Jiang* και συν. (2017) μελέτησαν 26 miRNAs, 675 mRNAs και 260 lncRNAs χρησιμοποιώντας μεθόδους βιοπληροφορικής (66). Εξ αυτών, 3 lncRNAs (S5645.1, XR\_006437.1, J01878) βρέθηκε να έχουν υψηλή συσχέτιση με τη PA. Εκ των miRNAs που βρέθηκαν να σχετίζονται είναι οι οικογένειες του **miR-20** και του **miR-152**. Συνολικά, από την ανάλυση φάνηκε ότι 23 ενδοκυττάρια μονοπάτια διαφέρουν στη PA, μεταξύ των οποίων το Wnt μονοπάτι και πολλά μεταβολικά μονοπάτια (όπως των λιπαρών οξέων και των υδατανθράκων).

### 3.4. microRNAs και Κυκλοφορούντα Εξωκυττάρια Κυστίδια

Τα εξωκυττάρια κυστίδια (extracellular vesicles - EVs) είναι κυστίδια που εκκρίνονται από διάφορα κύτταρα και φέρουν ποικίλα σηματοδοτικά μόρια. Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ο ρόλος τους στην διακυτταρική επικοινωνία των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (67). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η συσχέτιση των EVs με την παθογένεση της PA. Στα κυκλοφορούντα εξωσώματα των ασθενών με PA φαίνεται ότι υπάρχει διαφορετική έκφραση miRNAs σε σχέση με των υγιών. Το **miR-17** είναι αυξημένο στα εξωσώματα του ορού στους ασθενείς με PA και αυτό φαίνεται να οδηγεί σε μειωμένο ποσοστό Tregs στο αίμα αυτών των ασθενών (68). Η *Greisen* και συν. (2017) απομόνωσαν EVs από περιφερικό αίμα και αρθρικό υγρό ασθενών με PA, ενώ καλλιέργησαν μονοκύτταρα από τα ίδια βιολογικά υγρά (Peripheral Blood Mononuclear Cells-PBMCs, Synovial Fluid Mononuclear Cells-SFMCs) ώστε να εκκρίνουν EVs. Στη συνέχεια, μέτρησαν σε όλα τα προαναφερθέντα EVs τις συγκεντρώσεις ορισμένων miRNAs που στοχεύουν σε συν-ανασταλτές της δράσης των T λεμφοκυττάρων (PD-1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, IRF9) (69). Πρέπει να αναφερθεί ότι ο PD-1 είναι σημαντικός για τη διατήρηση της περιφερικής ανοσολογικής ανοχής, ενώ είναι και δείκτης «εξάντλησης» των T λεμφοκυττάρων. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν, καταρχάς, ότι τα EVs από τα PBMCs των ασθενών με PA είχαν μειωμένη έκφραση των εξετασθέντων miRNAs (**miR-15a**, **miR-16**, **miR-142**, **miR-181a**, **miR-363**, **miR-374a** κ.α.), δηλαδή αυξημένη έκφραση συν-ανασταλτών των T-λεμφοκυττάρων, σε σχέση με εκείνα των υγιών (69). Επιπρόσθετα, η καλλιέργεια των προαναφερθέντων κυττάρων οδήγησε στην

αύξηση της συγκέντρωσης των συγκεκριμένων miRNAs στα EVs που εκκρίθηκαν από τα PBMCs, ενώ στα SFMCs των ίδιων ασθενών δεν παρατηρήθηκε στον ίδιο βαθμό. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι στους ασθενείς με PA τα κυκλοφορούντα EVs μεταφέρουν ανασταλτικά σήματα, πιθανώς ως αντιρροπιστικός μηχανισμός στη συστηματική φλεγμονή. Από την άλλη, στα SFMCs των ασθενών με PA διατηρήθηκε η έκφραση ανασταλτικών σημάτων των T λεμφοκυττάρων, σε αντίθεση με τα PBMCs. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν τη σημασία των EVs στο μικροπεριβάλλον της φλεγμαίνουσας άρθρωσης, το οποίο φαίνεται να προωθεί τη χρονιότητα της φλεγμονής της PA.

### **3.5. microRNAs και Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)**

Σημαντικό ρόλο στη διαίωσιση της συστηματικής φλεγμονής της PA διαδραματίζουν τα μονοπύρρηνα του περιφερικού αίματος (PBMCs). Στα PBMCs ανήκουν τα B-, T-λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα της συστηματικής κυκλοφορίας. Πολλαπλές διαταραχές σε διάφορα miRNA έχουν βρεθεί στα προαναφερθέντα κύτταρα (**Πίνακας 2**).

Πρώτον, το **miR-21** είναι μειωμένο στα PBMCs των ασθενών με PA σε σχέση με εκείνα των υγιών (70). Αυτή η μείωση συνοδεύεται από αύξηση της έκφρασης STAT3 και μείωση της έκφρασης της STAT5, της pSTAT5 και του Foxp3, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου Th17 προς Tregs στο περιφερικό αίμα. Το **miR-103a** έχει βρεθεί αυξημένο στα PBMCs ασθενών με PA, αλλά και των «οροθετικών» (δηλαδή με θετικά ACPAs) υγιών συγγενών πρώτου βαθμού αυτών (62). Κυριότεροι στόχοι του συγκεκριμένου miRNA βρέθηκαν να είναι οι πρωτεΐνες TP53 και AGO2, οι οποίες φαίνεται να συμμετέχουν σε αρκετές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός και ο θάνατος του κυττάρου. Τα επίπεδα του **miR-125b** έχουν βρεθεί σημαντικά μειωμένα σε PBMCs και στο πλάσμα ασθενών με πρώιμη PA που δεν έχουν λάβει θεραπεία (71). Μάλιστα, όσο χαμηλότερα ήταν τα επίπεδά του, τόσο μεγαλύτερη βρέθηκε η βαρύτητα της αρθρίτιδας. Από την άλλη, αυξημένα επίπεδα **miR-145** φαίνεται ότι ανευρίσκονται στα PBMCs των ασθενών με PA και, μάλιστα, φαίνεται να συσχετίζονται με τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων (72).

Ένα από τα πιο μελετημένα miRNAs στη PA είναι το **miR-146a**. Πρώτος ο *Pauley* και συν. (2008) ανέδειξαν την αυξημένη έκφραση του miR-146a στα PBMCs των ασθενών με PA, ενώ αυξημένα ανευρέθηκαν και τα **miR-16**, **miR-132** και **miR-155** σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (73). Αργότερα, μια άλλη ερευνητική ομάδα επιβεβαίωσε την αύξηση του miR-146a στα PBMCs ασθενών με PA, σε σχέση με ασθενείς με OA και υγιείς μάρτυρες (74). Επίσης, όσο υψηλότερα ήταν τα επίπεδα του miR-146a, τόσο αυξημένη βρέθηκε η TKE, το DAS28, αλλά και ο TNFα στον ορό των ασθενών. Παρεμπιπτόντως, υψηλά επίπεδα miR-146a και miR-16 συσχετίστηκαν με ενεργή νόσο, ενώ χαμηλά επίπεδα αυτών των miRNA συνδυάστηκαν με ύφεση της PA. Παραταύτα, η αύξηση του miR-146a στα PBMCs δεν επηρεάζει τις πρωτεΐνες-στόχους του miR-146a TRAF6 και IRAK-1, οι οποίες ανευρίσκονται σε ίδιες συγκεντρώσεις σε ασθενείς με PA και υγιείς (73). Αυτό ίσως δείχνει ότι η απώλεια της ρύθμισης των γονιδίων των προαναφερθέντων πρωτεϊνών οδηγεί σε παρατεταμένη παραγωγή TNFα (75).

Το **miR-155** είναι ένα άλλο miRNA που έχει βρεθεί από διάφορους ερευνητές να εμπλέκεται στη διαταραχή της λειτουργίας των PBMCs. Όπως προαναφέρθηκε, ο *Pauley* και συν. (2008) είναι ο πρώτος που περιέγραψε αύξηση των επιπέδων του miR-155 στα PBMCs των ασθενών με PA (73). Αργότερα, η *Kurowska-Stolarska* και συν. (2011) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδα miR-155 στα μακροφάγα του αρθρικού υγρού ασθενών με PA, καθώς και στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος των ίδιων (76). Η αύξηση αυτή συνδέθηκε με μείωση της πρωτεΐνης SHIP-1, η οποία είναι στόχος του miR-155 και αποτελεί αναστολέα της φλεγμονής. Ο *Li* και συν. (2013) διεπίστωσαν, επίσης, αυξημένο το miR-155 στα PBMCs ασθενών με ενεργή PA, γεγονός που συσχετίστηκε με αυξημένη παραγωγή TNFα και IL-1β (77). Αυτή η μεταβολή συνοδεύτηκε από επακόλουθη μείωση των επιπέδων του SOCS1. Επίσης, ακόμα μεγαλύτερη αύξησή του miR-155 παρουσιάστηκε όταν τα PBMCs διεγέρθηκαν *in vitro* από τον TNFα (78). Από την άλλη, η αναστολή της έκφρασης miR-155 στα PBMCs και τα αρθρικά μακροφάγα οδήγησε σε μείωση της παραγωγής TNFα και άλλων προφλεγμονωδών κυτταροκινών (76, 77, 79), ενώ διαγονιδιακά ποντίκια που δεν εκφράζουν miR-155 («knock-out») είναι ανθεκτικά στην ανάπτυξη αρθρίτιδας (76, 80). Ακόμα, στα ίδια ποντίκια, η διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων προς Th17 ήταν μειωμένη (80). Τέλος, η αύξηση του miR-155 στους ασθενείς με PA φαίνεται να οδηγεί σε μειωμένη απόπτωση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος, καθώς και των αρθρικών μακροφάγων,

κάτι που εμμέσως προκαλεί περαιτέρω αύξηση της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών (81). Με τη βοήθεια μεθόδων της βιοπληροφορικής, πιθανοί στόχοι του miR-155, εκτός των άλλων, είναι και οι επαγωγείς απόπτωσης CASP10 και APAF1 (81). Αυτό σημαίνει ότι τα αυξημένα του επίπεδα σε συγκεκριμένα κύτταρα πιθανώς μειώνουν την απόπτωση αυτών.

Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα του **miR-146a** και του **miR-155** στα PBMCs και στο ολικό πλάσμα των ασθενών με PA παρουσιάζουν σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους (82). Αυτή η παρατήρηση διευκολύνει την πιθανή χρήση των συγκεκριμένων miRNAs ως βιοδεικτών, καθώς η μέτρησή τους σε δείγμα αίματος από οποιονδήποτε ασθενή με PA είναι τεχνικά λιγότερο απαιτητική από τη μέτρησή τους στα PBMCs. Παρόμοιες μελέτες θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν και για άλλα miRNAs των οποίων τα επίπεδα παρουσιάζουν μεταβολές στα PBMCs ασθενών με PA.

Σε μία ενδιαφέρουσα μελέτη του *Huang* και συν. (2018), μετρήθηκαν τα επίπεδα του **miR-210** στα PBMCs ασθενών με PA (83). Μπορεί τα επίπεδα του miR-210 ανάμεσα σε ασθενείς και υγιείς μάρτυρες να μη διέφεραν, αλλά ασθενείς με ενεργή PA είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα miR-210, σε σχέση με εκείνους σε ύφεση. Επίσης, τα **miR-221** και **miR-222** έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικά αυξημένα στα PBMCs των ασθενών με PA σε σχέση με τους υγιείς, και μάλιστα συσχετίστηκαν με την ενεργότητα της νόσου (84). Μεταξύ άλλων, έχουν ανευρεθεί αυξημένα επίπεδα του **miR-301a** στα PBMCs (85). Η αύξηση του miR-301a συνδυάστηκε με αύξηση του ποσοστού των Th17 στο περιφερικό αίμα. Στόχος του miR-301a είναι η PIAS3 που είναι αναστολέας του STAT3. Με αυτόν τον τρόπο η αύξηση του miR-301a προκαλεί αύξηση του STAT3, η οποία συνδέθηκε με αύξηση του ποσοστού των Th17 και ενισχυμένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Τέλος, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, το **miR-548a** έχει βρεθεί μειωμένο στα PBMCs και τον ορό (εντός εξωσωμάτων) των ασθενών με PA (86). Ως στόχος του miR-548a αναγνωρίστηκε το φλεγμονώδες μονοπάτι TLR4/NF-κB, ενώ το miR-548a μειώνει την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των pTHP-1 κυττάρων (πειραματικό μοντέλο μακροφάγων). Τα χαμηλά επίπεδά του, συνεπώς, φαίνεται να προάγουν τη συστηματική φλεγμονή (**Πίνακας 2**).



Το κάπνισμα, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, είναι γνωστός παράγοντας που συμμετέχει στην παθογένεια της ΡΑ. Μετρώντας την ογκοπρωτεΐνη surνίνιν στα PBMCs 144 γυναικών με ΡΑ, αυτή βρέθηκε ιδιαίτερα αυξημένη στις καπνίστριες ασθενείς (87). Εκτός αυτού, μελετώντας την έκφραση 374 miRNAs στα PBMCs, εκείνα τα κύτταρα στα οποία βρέθηκε αυξημένη η surνίνιν παρουσίαζαν μια γενική μείωση στην έκφραση miRNAs. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι στα κύτταρα που είχαν αυξημένες τις διάφορες ισομορφές της surνίνιν βρέθηκε μειωμένη η έκφραση των ενζύμων DGCR8 και Dicer που συμμετέχουν στη βιογένεση του ώριμου miRNA. Αντιστρόφως, η χορήγηση αναστολέα της surνίνιν από τους ερευνητές αύξησε την παραγωγή miRNAs από τα PBMCs. Εν κατακλείδι, στις καπνίστριες ασθενείς με ΡΑ αυξάνεται η surνίνιν και έτσι περιορίζεται η έκφραση miRNAs στα PBMCs.

miRNA	Μεταβολή	Στόχος	Αποτέλεσμα
<b>let-7a</b>	Μείωση	K-Ras, ERK1/2, JNK	↑IL-1
<b>miR-16</b>	Αύξηση		
<b>miR-21</b>	Μείωση	STAT3, STAT5, Foxp3	↑Th17, ↓Treg
<b>miR-103a</b>	Αύξηση	TP53, AGO2	
<b>miR-125b</b>	Μείωση		
<b>miR-132</b>	Αύξηση		
<b>miR-145</b>	Αύξηση		↑οστικές διαβρώσεις
<b>miR-146a</b>	Αύξηση	IRAK1, TRAF6	↑ κυτταροκινών
<b>miR-155</b>	Αύξηση	SHIP-1, SOCS1, CASP10, APAF1	↑TNFα, IL-1 ↓απόπτωση;
<b>miR-221</b>	Αύξηση		
<b>miR-222</b>	Αύξηση		
<b>miR-301a</b>	Αύξηση	PIAS3	↑Th17 διαφοροποίησης, ↑κυτταροκίνες
<b>miR-548a</b>	Μείωση	TRL4/NF-κB	↑NF-κB μονοπάτι

**Πίνακας 2.** Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στα PBMCs, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών.

### 3.6. microRNAs και T-Λεμφοκύτταρα

Με τα μέχρι τώρα δεδομένα, τα T λεμφοκύτταρα διαδραματίζουν κομβικό ρόλο στην παθογένεια της ΡΑ. Έχει αποδειχθεί ότι στους ασθενείς με ΡΑ υπάρχει μια ανισορροπία μεταξύ Th17 και Tregs που «βαραίνει» προς τη μεριά των Th17 και ευοδώνεται η συστηματική φλεγμονή (30, 31). Επίσης, στη ΡΑ τα T λεμφοκύτταρα συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των αρθρικών μακροφάγων και των RASFs (88).

Διάφοροι υπότυποι παρουσιάζουν συγκεκριμένες και διακριτές miRNA μεταβολές σε σχέση με τα T λεμφοκύτταρα των υγιών (**Πίνακας 3**).

miRNA	Μεταβολή	Στόχος	Αποτέλεσμα
<b>miR-16</b>	Αύξηση(Th17) Μείωση (Tregs)	RORγT (Th17) Foxp3 (Tregs)	↑Th17,↓Treg
<b>miR-19b</b>	Μείωση (T <sub>CM</sub> )		↑κυτταροκίνες
<b>miR-20a</b>	Μείωση (T <sub>EM</sub> )		↑κυτταροκίνες
<b>miR-21</b>	Μείωση (CD4 γενικά) Αύξηση (T <sub>EM</sub> )	STAT3, STAT5, Foxp3	↑Th17,↓Treg, ↑κυτταροκίνες
<b>miR-106a</b>	Μείωση (T <sub>EM</sub> )		↑κυτταροκίνες
<b>miR-136</b>	Μείωση (CD3 γενικά)		
<b>miR-139</b>	Μείωση (CD3 γενικά)		
<b>miR-146a</b>	Αύξηση(CD4, Th17) Μείωση (Tregs)	FAF1 (CD4) STAT1 (Tregs)	↓απόπτωση CD4, ↑κυτταροκίνες
<b>miR-155</b>	Μείωση (Tregs)		
<b>miR-204</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-214</b>	Μείωση (CD4)	Ras, JNK, ERK	↓απόπτωση CD4
<b>miR-223</b>	Αύξηση (naïve)	υποδοχέας IGF-1	↓IL-10
<b>miR-363</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-383</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-451</b>	Αύξηση (CD3 γενικά)		
<b>miR-498</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-524</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-548d</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-760</b>	Μείωση (CD4)		
<b>miR-887</b>	Μείωση (CD4)		

**Πίνακας 3.** Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στους υπότυπους των κυκλοφορούντων T λεμφοκυττάρων του πλάσματος, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών.

Το **miR-16** έχει βρεθεί αυξημένο στα Th17 των ασθενών με PA, αυξάνοντας, εμμέσως, την έκφραση RORγt, ενώ στα Tregs των ίδιων ασθενών το miR-16 βρέθηκε μειωμένο, συνδεδεμένο με αύξηση της έκφρασης του Foxp3 (19). Αυτές οι αλλαγές οδηγούν σε αυξημένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα Th17 και μειωμένη έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα Tregs. Όσον αφορά το **miR-17**, αυτό έχει βρεθεί αυξημένο στα κυκλοφορούντα εξωσώματα στον ορό των ασθενών με PA και τα επίπεδά του είναι αντιθέτως ανάλογα με το ποσοστό των Tregs στο περιφερικό αίμα (68). Φάνηκε ότι το miR-17 μειώνει τη διαφοροποίηση των Tregs στοχεύοντας το TGFBR II (68). Εκτός αυτού, το **miR-21** είναι μειωμένο στα κυκλοφορούντα PBMCs και CD4+ T λεμφοκύτταρα των ασθενών με PA, ενώ συνοδεύεται από αύξηση της έκφρασης STAT3 και μείωση της

έκφρασης της STAT5, της pSTAT5 και του Foxp3 (70). Οι αλλαγές αυτές συνδέθηκαν με αύξηση της διαφοροποίησης προς Th17. Συγκεκριμένα, όσο χαμηλότερα ήταν τα επίπεδα του miR-21, τόσο μεγαλύτερος ήταν ο λόγος Th17/Tregs (70). Επίσης, όταν χορηγήθηκε maresin1 σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας βελτιώθηκε η κλινική και ιστολογική εικόνα της αρθρίτιδας, μέσω μείωσης τους miR-21 στα naïve CD4 T λεμφοκύτταρα (89). Αντίθετα, το miR-21 έχει βρεθεί αυξημένο στα Tregs του αρθρικού υγρού, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα CD4+ του αρθρικού υγρού των ασθενών με PA και τα Tregs του περιφερικού αίματος (90). Αυτή η αύξηση πιθανολογείται από τους ερευνητές ότι συνδέεται με ελαττωμένη απόπτωση αυτών των αρθρικών Tregs.

Σε μια πρόσφατη μελέτη, ο *Guggino* και συν. (2018) μελέτησαν την έκφραση των miRNAs που ανήκουν στην οικογένεια miR17-92 στα περιφερικά Vγ9Vδ2 T λεμφοκύτταρα, που αποτελούν βασικό υπότυπο των γδ-T λεμφοκυττάρων. Από την έρευνά τους διαπίστωσαν μια στροφή των γδ-T λεμφοκυττάρων με αύξηση των δραστικών μνήμης (effector memory) και μείωση των παρθένων (naïve) (91). Αυτή η αλλαγή της αναλογίας συνδυάστηκε με αυξημένη έκφραση **miR-21a** και μειωμένη έκφραση **miR-20a** και **miR-106a** στα Vγ9Vδ2 T δραστικά μνήμης, καθώς και με μείωση του **miR-19b** στα Vγ9Vδ2 T κεντρικής μνήμης (central memory) (91). Αυτές οι παρατηρήσεις συνδυάστηκαν και με αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών στον ορό.

Διάφορες μελέτες δείχνουν μεταβολές του **miR-146a** στα T λεμφοκύτταρα. Ο *Li* και συν. (2010) έδειξαν ότι το miR-146a βρίσκεται αυξημένο στα CD4+ T λεμφοκύτταρα στον ορό και το αρθρικό υγρό ασθενών με PA, ενώ, αντίθετα, τα **miR-363** και **miR-498** βρέθηκαν μειωμένα (92). Τα αυξημένα επίπεδα miR-146a στα CD4+ T λεμφοκύτταρα συσχετίστηκαν με μείωση της έκφρασης του FAF1 και επακόλουθο περιορισμό της απόπτωσης αυτών των κυττάρων. Εκτός αυτού, το miR-146a έχει βρεθεί αυξημένο στα Th17 του περιφερικού αίματος και του αρθρικού υγρού σε ασθενείς με PA, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι η αύξηση του miR-146a μπορεί να συμβάλλει στην έκκριση της προφλεγμονώδους IL-17 (93). Από την άλλη, ο *Zhou* και συν. (2015) παρατήρησαν μειωμένα επίπεδα miR-146a και **miR-155** στα Tregs ασθενών με PA, ειδικά σε εκείνους με ενεργή νόσο (94). Η μείωση της έκφρασης του miR-146a στα Tregs συσχετίστηκε με αύξηση της πρωτεΐνης-στόχου STAT1 και

διαμόρφωση ενός «προφλεγμονώδους φαινότυπου» των Tregs, με αυξημένη έκκριση κυτταροκινών.

Σε μια πρόσφατη μελέτη, εννέα miRNAs βρέθηκαν μειωμένα στα κυκλοφορούντα T λεμφοκύτταρα στον ορό ασθενών με RA: **miR-136, miR-139, miR-204, miR-214, miR-383, miR-524, miR-548d, miR-760 και miR-887** (95). Όταν μελετήθηκε η επίδραση του **miR-214** στα T λεμφοκύτταρα, φάνηκε ότι το miR-214 προάγει την απόπτωσή τους, πιθανώς μέσω μειωμένης φωσφορυλίωσης των ERK και JNK, οπότε, επαγωγικά, τα χαμηλά του επίπεδα ίσως συμβάλλουν στην παρατεταμένη επιβίωση των T λεμφοκυττάρων στη RA.

Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι το **miR-223** έχει βρεθεί αυξημένο στα κυκλοφορούντα naïve CD4<sup>+</sup> T λεμφοκύτταρα ασθενών με RA, ενώ, αντίθετα, έχει βρεθεί πολύ μειωμένο στα κυκλοφορούντα Th17, σε σχέση με τους υγιείς (96). Επιπρόσθετα, το miR-223 έχει βρεθεί αυξημένο στο σύνολο των T λεμφοκυττάρων ασθενών με RA από άλλη ερευνητική ομάδα (97). Τα επίπεδα του miR-223 παρουσίασαν θετική συσχέτιση με τα επίπεδα του RF στον ορό. Επίσης, η αύξηση του miR-223 συνδέθηκε με μειωμένα επίπεδα του υποδοχέα του IGF-1 και επακόλουθη μείωση της αντιφλεγμονώδους ιντερλευκίνης-10.

Τέλος, η *Smigielska-Czepiel* και συν. (2014) μελετώντας την έκφραση των miRNAs σε υπότυπους T λεμφοκυττάρων σε ασθενείς με RA ανακάλυψαν ότι τα επίπεδα του **miR-451**, συνολικά στα περιφερικά T λεμφοκύτταρα, είναι ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου (98). Συγκεκριμένα, όσο μεγαλύτερη η τιμή της TKE, του DAS28 και της IL-6 στον ορό, τόσο υψηλότερα τα επίπεδα του miR-451 στα T λεμφοκύτταρα των ασθενών. Παρεμπιπτόντως, ενώ αναδείχτηκαν διαφορετικά πρότυπα miRNA έκφρασης (“miRNA signature”) μεταξύ των υπότυπων των T λεμφοκυττάρων, δεν αναδείχτηκαν ιδιαίτερες μεταβολές στα T λεμφοκύτταρα των ασθενών με RA (“RA-specific changes”) που θα μπορούσαν να τα διακρίνουν από τα αντίστοιχα των υγιών.

### **3.7. microRNAs και Δενδριτικά Κύτταρα**

Τα δενδριτικά κύτταρα είναι κύτταρα της έμφυτης ανοσίας, όπου λειτουργούν ως αντιγονοπαρουσιαστικά, δηλαδή «παρουσιάζουν» αντιγόνα στα κύτταρα της

επίκτητης ανοσίας (T & B λεμφοκύτταρα). Συναντώνται σε ιστούς που έρχονται σε άμεση επαφή με εξωτερικά αντιγόνα (π.χ. δέρμα, ανώτερο και κατώτερο αναπνευστικό, γαστρεντερικό) και όταν ενεργοποιούνται μετακινούνται στους λεμφαδένες, όπου και ασκούν τον αντιγονοπαρουσιαστικό τους ρόλο στα T- και B-λεμφοκύτταρα. Σε ασθενείς με PA έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα **miR-34a** στα CD1c+ δένδριτικά κύτταρα (99). Αυτό οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα του υποδοχέα τυροσινικής κινάσης AXL που αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα της ενεργοποίησης των δένδριτικών κυττάρων. Ακόμα, στην ίδια μελέτη φάνηκε ότι διαγονιδιακά ποντίκια από τα οποία απουσιάζει το γονίδιο του miR-34a είναι ανθεκτικά στην ανάπτυξη πειραματικής φλεγμονώδους αρθρίτιδας, ενώ παρουσιάζουν μικρότερη αλληλεπίδραση δένδριτικών - T λεμφοκυττάρων και περιορισμένη ανάπτυξη Th17 λεμφοκυττάρων. Σε μια άλλη μελέτη σε ασθενείς με PA, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα δένδριτικά κύτταρα του περιφερικού αίματος επάγουν τη διαφοροποίηση των Th17 λεμφοκυττάρων, ενώ αυξάνεται ο λόγος Th17/Treg, γεγονός που συμβάλλει στη συνεχιζόμενη φλεγμονή (100). Σε αυτά τα δένδριτικά κύτταρα, τα επίπεδα του **miR-363** βρέθηκαν χαμηλά σε σχέση με τα αντίστοιχα κύτταρα στους υγιείς εθελοντές (100). Ως αποτέλεσμα, η παραγωγή της ιντεγκρίνης «αν» (ITGAV) ήταν αυξημένη, με αποτέλεσμα να αυξηθούν τα επίπεδα του TGF-β και έτσι να ευνοηθεί η διαφοροποίηση των naïve CD4+ T λεμφοκυττάρων σε Th17.

### **3.8. microRNAs στον Αρθρικό Υμένα**

Ο υμένας των αρθρώσεων που προσβάλλονται από τη PA παρουσιάζει διόγκωση, πολλαπλασιασμό των RASFs, διήθηση από διάφορων τύπων λευκά αιμοσφαίρια, αυξημένη αιμάτωση, ενώ διηθεί τον παρακείμενο χόνδρο και το παρακείμενο οστόν. Στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα της PA έχει μετρηθεί χαμηλή συγκέντρωση **miR-27a**, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή MMPs που διασπούν τη θεμέλια ουσία του χόνδρου και συμβάλλουν στην αυξημένη μετανάστευση και διήθηση των RASFs (101). Επίσης, έχει παρατηρηθεί μειωμένο ποσοστό κυττάρων που αποτίπτουν και αυξημένα επίπεδα των πρωτεϊνών Beclin-1 και LC3, που είναι βασικοί διαμεσολαβητές της αυτοφαγίας (102). Τα αυξημένα επίπεδα Beclin-1 και LC3 συνδέθηκαν με μειωμένα επίπεδα **miR-30a** στους αρθρικούς ιστούς, ενώ παρατηρήθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ αυτοφαγίας και απόπτωσης· η αυξημένη αυτοφαγία φαίνεται να οδηγεί σε μειωμένη απόπτωση των κυττάρων του αρθρικού υμένα (κυρίως μακροφάγων και RASFs). Παρεμπιπτόντως,

στους αρθρικούς ιστούς έχει βρεθεί μειωμένο το **miR-708**, το οποίο, όταν αυξήθηκαν *in vitro* τα επίπεδά του, φάνηκε να προωθεί την απόπτωση και να περιορίζει τη μετανάστευση των RASFs, μέσω αναστολής του μονοπατιού Wnt/ $\beta$ -κατενίνης (103).

Ο πολλαπλασιασμός και η επιβίωση των κυττάρων του υπερτροφικού αρθρικού υμένα της PA, καθώς και η διακίνηση κυτταροκινών και διεγερμένων λευκών αιμοσφαιρίων εξαρτάται από την τοπική αιματική ροή. Ο αρθρικός υμένας παρουσιάζει αυξημένη αγγείωση χάρη στο μηχανισμό της νεοαγγειογένεσης. Ο Su και συν. (2017) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης resistin στο αρθρικό υγρό και τον αρθρικό υμένα ασθενών με PA (104). Επίσης, βρήκαν ότι η resistin οδηγεί σε απευθείας αύξηση στην παραγωγή του vascular endothelial growth factor (VEGF), ο οποίος με τη σειρά του προκαλεί τοπική προσέλκυση πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων (Endothelial progenitor cells - EPCs) και επακόλουθη δημιουργία αγγειακών αυλών. Επιπρόσθετα, οι ερευνητές έδειξαν ότι η resistin προκαλεί μείωση του **miR-206** στα EPCs, πιθανότατα μέσω του μονοπατιού PKC- $\delta$ /AMPK, και ότι αυτή η αλλαγή συμβάλλει στην αύξηση της έκκρισης VEGF.

### **3.9. microRNAs στον Αρθρικά Μακροφάγα**

Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αρθρίτιδας φαίνεται να παίζει η τοπική ενεργοποίηση της έμφυτης ανοσίας. Έχει βρεθεί ότι με την επίδραση του **miR-let-7b** (συγκεκριμένα με τη σύνδεσή του συγκεκριμένου miRNA στον TLR-7) των παΐνε μυελοειδών κυττάρων που βρίσκονται στον αρθρικό υμένα, αυτά μετατρέπονται σε ενεργοποιημένα φλεγμονώδη M1 μακροφάγα (105). Στα αρθρικά μακροφάγα έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα miR-146a (106), ενώ έχει φανεί ότι το miR-146a μειώνει το σχηματισμό πολυπύρηνων οστεοκλαστών από αρθρικά μακροφάγα, δηλαδή την οστεοκλαστογένεση, με τρόπο δόσοεξαρτώμενο, επιβραδύνοντας έτσι το σχηματισμό οστικών διαβρώσεων (107). Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, το **miR-155** έχει βρεθεί αυξημένο στα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα του αρθρικού υγρού και του αρθρικού υμένα ασθενών με PA (76). Αυτό το εύρημα συνοδεύτηκε με μείωση της πρωτεΐνης-στόχου SHIP-1, που είναι αναστολέας της φλεγμονής. Όντως, όταν έγινε γενετική σίγαση του γονιδίου του miR-155 παρατηρήθηκε μείωση της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα μακροφάγα και αντίσταση στην ανάπτυξη αρθρίτιδας (76, 79). Επίσης, το miR-155

φαίνεται να μειώνει την απόπτωση των αρθρικών μονοκυττάρων, πιθανότατα μειώνοντας τα επίπεδα δύο προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών, της CASP10 και της APAF1(81). Συνεπώς, το αυξημένο miR-155 στα αρθρικά μακροφάγα ευοδώνει την επιβίωσή τους και την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Εκτός αυτού, ο *Ogando* και συν. (2016) διεπίστωσαν αυξημένη έκφραση **miR-223** στα αρθρικά μακροφάγα ασθενών με ενεργή PA (108). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή του μονοπατιού AHR/ARNT, το οποίο καταστέλλει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Επομένως το αυξημένο miR-223 οδηγεί, έμμεσα, σε αυξημένη απελευθέρωση κυτταροκινών από τα αρθρικά μακροφάγα. Τέλος, σε μια άλλη μελέτη, βρέθηκαν επίσης αυξημένα επίπεδα miR-223 στα αρθρικά μακροφάγα ασθενών με PA, αλλά αυτή η αύξηση συσχετίστηκε με μείωση της οστεοκλαστογένεσης in vitro (109).

### **3.10. microRNAs και RASFs**

Οι φυσιολογικοί υμενικοί ινοβλάστες προέρχονται από μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (stem cells). Σε ασθενείς με PA, επιγενετικοί (υπομεθυλίωση στοχευμένων περιοχών του DNA, διακριτό πρότυπο ακετυλίωσης των ιστονών, έκφραση συγκεκριμένων miRNAs) και άλλοι μηχανισμοί εκτρέπουν τους RASFs, ώστε αυτοί να έχουν «επιθετικό» προφίλ (110, 111). Οι RASFs χαρακτηρίζονται από μειωμένη απόπτωση, αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης, διήθησης, παραγωγής προφλεγμονωδών κυτοκινών και ενζύμων που διασπούν την θεμέλια ουσία (μεταλλοπρωτεΐνάσες κλπ.). Έτσι, συμμετέχουν στην καταστροφή του χόνδρου και του υποχόνδριου οστού, καθώς και στη διαιώνιση της φλεγμονής (112, 113). Είναι οι αποδέκτες συστηματικών και τοπικών προφλεγμονωδών σημάτων και ενορχηστρωτές της τοπικής διήθησης από φλεγμονώδη κύτταρα και της επακόλουθης ιστικής βλάβης (114). Τα παραπάνω χαρακτηριστικά των RASFs δικαιολογούν γιατί ορισμένοι ερευνητές τα παρομοιάζουν με τα καρκινικά κύτταρα (115). Σημαντική ευθύνη για αυτή τη δραστηριότητα των RASFs φέρουν διάφορες επιγενετικές αλλαγές και ιδίως αλλαγές σε διάφορα miRNAs (114). Διάφορα ενδοκυττάρια μονοπάτια στους RASFs φαίνεται να επηρεάζονται και, κυρίως, εκείνο του Wnt/ $\beta$ -κατενίνης και του NF- $\kappa$ B (116).

Ο *Mu* και συν. (2016) ανακάλυψαν χαμηλά επίπεδα **miR-10a** στους RASFs, ιδίως όταν αυτοί εκτέθηκαν σε TNF- $\alpha$  και IL-1 $\beta$  (117). Η μείωση του miR-10a προκαλεί

ενεργοποίηση του μονοπατιού NF-κB, μέσω αύξησης των ενζύμων-στόχων IRAK4, TAK1 και BTRC. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών & χημειοκινών (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 και MCP-1), καθώς και μεταλλοπρωτεϊνών MMP-1 και MMP-13. Επιπρόσθετα, ο Hussain και συν παρατήρησαν ότι φλεγμαίνοντα συνοβιοκύτταρα τύπου SW982 μετά από χορήγηση IL-1β παρουσίασαν χαμηλά επίπεδα miR-10a, με συνοδή διέγερση του πολλαπλασιασμού και μείωση της απόπτωσης τους μέσω αύξησης της TBX5 (115).

Όσον αφορά το **miR-17**, μια μελέτη έδειξε μείωσή του στους RASFs (118). Σύμφωνα με τους ερευνητές, η σύνδεση του miR-17 με το TRAF2 αποσταθεροποιούσε την αλληλεπίδραση του τελευταίου με το cIAP2 και έτσι μειωνόταν, έμμεσα, η παραγωγή IL-6, IL-8, MMP-1 και MMP-13 από τους RASFs, μέσω του NF-κB μονοπατιού. Συνεπώς, η μείωση του miR-17 προκαλεί τα αντίθετα αποτελέσματα.

Όπως διατυπώθηκε και νωρίτερα, η αυξημένη ενεργότητα του προφλεγμονώδους μονοπατιού NF-κB ευθύνεται κατά ένα μέρος για το φλεγμονώδη φαινότυπο των RASFs. Σε μια μελέτη του Trenkmann και συν φάνηκε ότι στους RASFs παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα **miR-18a** (119). Στοχεύοντας την TNFα-induced protein 3 (TNFAIP-3), που είναι αναστολέας του NF-κB μονοπατιού, το miR-18a προκαλεί έναν μηχανισμό θετικής παλίνδρομης ρύθμισης του NF-κB μονοπατιού και, συνεπώς, τα αυξημένα του επίπεδα συμβάλλουν στο φαύλο κύκλο της φλεγμονής στην άρθρωση. Να σημειωθεί ότι η διέγερση των RASFs με TNFα προκάλεσε αύξηση των πρόδρομων miR-18a. Επίσης, στην ίδια έρευνα, αυξημένα επίπεδα miR-18a συνδυάστηκαν με αύξηση της έκκρισης MMP-1, IL-6, IL-8 και MCP-1.

Το **miR-19** έχει βρεθεί μειωμένο στους RASFs. Ο *Philippe* και συν. (2012) ανακάλυψαν ότι η μείωση του miR-19 στους RASFs συνδέεται με αυξημένη TLR2 σηματοδότηση και επαγωγή της φλεγμονής (120). Σε μεταγενέστερη μελέτη σε 126 ασθενείς με PA ο Li και συν. επιβεβαίωσαν τα παραπάνω αποτελέσματα, ενώ η χορήγηση miR-19 στους RASFs φάνηκε να περιορίζει την TLR2 σηματοδότηση και την παραγωγή IL-6 και MMP-3 (121).



Για το **miR-20a** τα δεδομένα συγκλίνουν ότι διαδραματίζει «αντιφλεγμονώδη» ρόλο. Μία μελέτη έδειξε ότι οι διεγερμένοι RASFs έχουν χαμηλά επίπεδα miR-20a και ότι αυτά συνδυάζονται με αύξηση των επιπέδων της ASK1, μιας κινάσης που μετέχει στο προφλεγμονώδες μονοπάτι του TLR4 (122). Εκτός αυτού, σε πειραματικό μοντέλο RASFs, το miR-20a προκάλεσε μείωση σχηματισμού του φλεγμονοσώματος NLRP3 μέσω μείωσης των επιπέδων της TXNIP (123).

Σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο PA, οι RASFs παρουσίασαν υψηλά επίπεδα **miR-21** σε σχέση με τα υγιή (124). Αυτό συνδυάστηκε με υψηλότερα επίπεδα NF-κΒ στον πυρήνα των RASFs, ενώ το αντίθετο αποτέλεσμα είχε η μείωση του miR-21. Επίσης, μειωμένος πολλαπλασιασμός των RASFs παρατηρήθηκε στην ομάδα του μειωμένου miR-21. Συνεπώς, η αύξηση του miR-21 στους RASFs φαίνεται να συμβάλλει στον αυξημένο πολλαπλασιασμό τους, μέσω του μονοπατιού του NF-κΒ.

Διαταραγμένη φαίνεται να είναι και η έκφραση του **miR-22** στους RASFs σε σχέση με τους αρθρικούς ινοβλάστες ασθενών με OA (125). Στόχος του miR-22 είναι η πρωτεΐνη Cyr61, μια εξωκυττάρια πρωτεΐνη της θεμέλιας ουσίας, η οποία εκκρίνεται από τους αρθρικούς ινοβλάστες και συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό τους και την έκκριση IL-6 από αυτούς. Στους RASFs έχουν βρεθεί μειωμένα επίπεδα miR-22, με αποτέλεσμα αύξηση της Cyr61 και ενίσχυση των προαναφερθέντων αποτελεσμάτων της (125). Εκτός αυτού, η ανεύρεση χαμηλής έκφρασης miR-22 στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα συσχετίστηκε με ανεύρεση αποσιωποητικών («silencing») μεταλλάξεων στο γονίδιο του p53, μεταλλάξεις οι οποίες το καθιστούν ανενεργό στους RASFs (125). Να σημειωθεί ότι ως μεταγραφικός παράγοντας, το p53 βρέθηκε να συνδέεται απευθείας με το γονίδιο του miR-22 και να επάγει τη μεταγραφή του.

Στους RASFs έχουν ανευρεθεί και χαμηλά επίπεδα **miR-23b** (126). Το miR-23b στοχεύει τις πρωτεΐνες TAB2, TAB3 και IKK-α, συμβάλλοντας στον περιορισμό της φλεγμονώδους αντίδρασης. Έτσι, η μείωση του miR-23b, η οποία φαίνεται να διαμεσολαβείται από την IL-17, έχει ενισχύει τη φλεγμονή.

Αν και μέχρι τώρα δεν έχει γίνει μέτρηση των επιπέδων του **miR-26b** στους RASFs, έχει μελετηθεί η επίδρασή του σε αυτούς. Η χορήγηση αναλόγου του miR-26b στους RASFs μεταβάλλει το μονοπάτι Wnt προς την κατεύθυνση του περιορισμού του

πολλαπλασιασμού, της αύξησης της απόπτωσης και της μείωσης της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών από αυτούς (127).

Το **miR-27a** παρουσιάζεται σε χαμηλά επίπεδα στους RASFs, τον αρθρικό υμένα και το πλάσμα των ασθενών με PA, ενώ η πειραματική καταστολή του οδήγησε σε αυξημένη μετανάστευση και διήθηση των RASFs (101). Αντίθετα, η χορήγηση miR-27a στους RASFs οδήγησε σε μείωση της παραγωγής μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-2, MMP-9, MMP-13) και πρωτεϊνών της ομάδας Rho, ενζύμων που διαδραματίζουν ρόλο στη μετανάστευση διαφόρων κυττάρων, και είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της μετανάστευσης των συγκεκριμένων κυττάρων. Το miR-27a συσχετίστηκε με την FSTL1 και με αυτόν τον τρόπο με το φλεγμονώδες μονοπάτι TLR4/NF-κB.

Προσφάτως, ανευρέθηκε μείωση του **miR-29a** στον ορό, τον αρθρικό υμένα και τους RASFs στη PA (128). Η μείωση του miR-29a φάνηκε να δρα μέσω STAT3 αυξάνοντας τα προϊόντα κυκλίνης D1 και Bcl-2, προκαλώντας στους RASFs αυξημένο πολλαπλασιασμό, μειωμένη απόπτωση και αύξηση της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Έχει, επίσης,δειχτεί ότι το miR-29 στοχεύει την DNMT3A και ότι εμποδίζει την επαναμεθυλίωση του DNA σε RASFs στους οποίους χορηγήθηκαν επαναμεθυλιωτικοί παράγοντες (129). Στην τελευταία μελέτη δεν συγκρίθηκαν τα επίπεδα miR-29 στους RASFs σε σχέση με υγιείς αρθρικούς ινοβλάστες.

Στους RASFs έχει βρεθεί μειωμένο και το **miR-30a** (130). Η μείωση αυτή συσχετίστηκε με αυξημένη ανεύρεση BAFF και αυξημένη επιβίωση των B λεμφοκυττάρων, σε σχέση με αρθρικούς ινοβλάστες από υγιείς δότες.

Μία ερευνητική ομάδα από την Ιαπωνία ανακάλυψε στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα **miR-124a** στους RASFs (131, 132), τα οποία επιβεβαιώθηκαν αργότερα και από άλλους ερευνητές (133, 134). Όταν χορήγησαν μόριο όμοιο του miR-124a παρατηρήθηκε επιβράδυνση του πολλαπλασιασμού των RASFs και μείωση της έκφρασης της CDK-2 και της MCP-1. Η τελευταία συμβάλλει στην προσέλκυση-χημειοταξία T λεμφοκυττάρων μνήμης και NK λεμφοκυττάρων (φυσικούς φονείς).

Τα επίπεδα του **miR-125b** αυξάνονται στον ορό, τον αρθρικό υμένα, αλλά και τους RASFs, οδηγώντας σε γενικευμένη ενεργοποίηση του μονοπατιού NF-κB και αυξημένη έκκριση TNFα, IL-1β, IL-6 από τους τελευταίους (135).

Το **miR-126** ανευρίσκεται αυξημένο τους RASFs σύμφωνα με δύο μελέτες (136, 137). Τα αυξημένα επίπεδά του φαίνεται να μειώνουν την έκφραση της PIK3R2 και να προάγουν την έκφραση των PI3K και p-AKT, αναστέλλοντας την απόπτωση και προωθώντας τον πολλαπλασιασμό των RASFs. Από την άλλη, το miR-126 έχει βρεθεί ότι μειώνει την παραγωγή TNF-α, IFN-γ και IL23R από τους RASFs, in vitro, σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας, ενώ τα επίπεδά του στο πλάσμα και το αρθρικό υγρό των ασθενών με RA είναι χαμηλά (138).

Σε σχέση με αρθρικούς ινοβλάστες από υγιείς, οι RASFs παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση **miR-137** (139). Αύξηση της έκφρασής του οδήγησε σε μείωση του πολ/σμού, της μετανάστευσης και της διήθησης των RASFs, καθώς και της μείωσης παραγωγής κυτοκινών. Ως στόχος του miR-137 ταυτοποιήθηκε η CXCL12 (139).

Ο *Peng* και συν. (2016) μετρώντας τα επίπεδα του **miR-140** σε αρθρικό ιστό και RASFs από ασθενείς με PA βρήκαν ότι ήταν μειωμένα (140). Αυτή η μείωση φαίνεται να οδηγεί σε αυξημένη επιβίωση, πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των RASFs μέσω δράσης στις πρωτεΐνες-στόχους sirtuin1 και SCDF1.

Οι τιμές του **miR-143** έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικά αυξημένες σε αρθρικό υμένα ασθενών με PA σε σχέση με ασθενείς με OA (141). Σε in vitro πειράματα η μείωση του miR-143 ακολουθήθηκε από μείωση του πολλαπλασιασμού και αύξηση της απόπτωσης των MH7A κυττάρων (που αποτελούν πειραματικό μοντέλο ανθρώπινων RASFs). Το miR-143 φαίνεται να ασκεί τη δράση του μέσω μείωσης του υποδοχέα του IGF1 (IGF1R) και της IGFBP5, καθώς και μέσω ενίσχυσης του μονοπατιού Ras/p38 MAPK (141). Παρόμοια αποτελέσματα για το miR-143 ανέδειξε και μια άλλη ερευνητική ομάδα ένα χρόνο νωρίτερα. Ο *Hong* και συν. (2017) παρατήρησαν την αντίστροφη σχέση miR-143 και IGFBP5 και ότι τα υψηλά επίπεδα miR-143 και χαμηλά επίπεδα IGFBP5 στους RASFs οδηγούσαν σε ενεργοποίηση του NF-κB μονοπατιού και παραγωγή IL-6 (142). Εκτός αυτού, στην ίδια μελέτη αναδείχτηκε ότι στους RASFs συναντώνται υψηλά επίπεδα **miR-145**. Το miR-145 σχετίστηκε δομικά με τη SEMA3A, η οποία είναι ανταγωνιστής του VEGF165. Ο

VEGF165 έχει συσχετισθεί με αυξημένη επιβίωση και μετανάστευση των RASFs. Τελικά, η αύξηση του miR-145 στους RASFs μέσω αναστολής της SEMA3A οδηγεί σε αυξημένη επιβίωση και μετανάστευση αυτών των κυττάρων (142).

Σε μια από τις πρώτες μελέτες για miRNA στη PA, ο *Nakasa* και συν. (2008) περιέγραψαν αυξημένα επίπεδα **miR-146a** σε διεγερμένους με TNFα και IL-1β RASFs (106). Αυτή η αύξηση αφορούσε, επίσης, και άλλα κύτταρα της άρθρωσης, όπως μακροφάγα, T και B λεμφοκύτταρα. Επιπρόσθετα, δύο άλλες μελέτες επιβεβαίωσαν την αύξηση του miR-146a στους RASFs (143, 144). Παραταύτα, σε καμία από τις τρεις αυτές μελέτες δεν υπήρξε συσχέτιση της miR-146 με κάποια πρωτεΐνη-στόχο, ούτε συσχετίστηκε αυτή η αύξηση με κάποια αλλαγή στη λειτουργία των RASFs σε σχέση με τους υγιείς υμενικούς ινοβλάστες.

Το μονοπάτι του Wnt έχει ενοχοποιηθεί ότι συμμετέχει στην παθογένεια της PA, ευοδώνοντας την ενεργοποίηση των RASFs (145). Ο *Miao* και συν. (2014) έδειξαν ότι στους RASFs παρατηρούνται μειωμένα επίπεδα **miR-152**, ενός miRNA που στοχεύει την DNMT1 (146). Η χορήγηση miR-152 στους RASFs είχε συνέπεια την μείωση των επιπέδων της DNMT1 με αποτέλεσμα τη ναύξηση της μετάφρασης της SFRP4, ενός αναστολέα του Wnt μονοπατιού, μειώνοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των RASFs. Από την ίδια ερευνητική ομάδα, επίσης, αποδείχτηκε εμμέσως ότι η αυξημένη DNMT1 στους RASFs, μαζί με την MeCP2, μεθυλιώνουν τον προαγωγέα του γονιδίου του miR-152 και εμποδίζουν τη μεταγραφή του (147). Επιπρόσθετα, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε επίσης μειωμένα επίπεδα miR-152 στους RASFs και αναγνώρισε ως στόχο του miR-152 την ADAM10, μέσω της αναστολής της οποίας το miR-152 μειώνει τον πολλαπλασιασμό και αυξάνει την απόπτωση των RASFs (148). Συμπερασματικά, τα μειωμένα επίπεδά του miR-152 στους RASFs οδηγούν σε μειωμένη αναστολή του Wnt μονοπατιού και αυξημένο πολλαπλασιασμό και μειωμένη απόπτωση των RASFs.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι το **miR-155** βρίσκεται αυξημένο στους RASFs (78, 143, 144, 149). Στην πρώτη μελέτη που έγινε για miRNAs σε ασθενείς με PA, η *Stanczyk* και συν. (2008) έδειξαν ότι οι διεγερμένοι με TNFα RASFs υπερπαραγάγουν miR-155 και miR-146a (144). Παράλληλα, η αυξημένη έκφραση του miR-155 έδειξε να μειώνει τα επίπεδα των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-1 και MMP-3. Να σημειωθεί ότι σε άλλο πείραμα την ίδια περίοδο, δεν είχε διαπιστωθεί μεταβολή του miR-155 μετά

από διέγερση των RASFs με TNFα (106). Μέτρηση του συνόλου των miRNAs σε διεγερμένους από TNFα RASFs ανέδειξε αύξηση του miR-155 (149). Στο ίδιο πείραμα φάνηκε ότι παρά τη μη μεταβολή των επιπέδων του miR-155 μετά από διέγερση των RASFs με IL-6, η χορήγηση αναλόγου του miR-155 καταστέλλει το προφλεγμονώδες μονοπάτι JAK2/STAT3 που διαμεσολαβείται από την IL-6. Ο Long και συν. (2013) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδα miR-155 στους RASFs, γεγονός που μειώνει την πρωτεΐνη-στόχο IKBKE και συμβάλλει στον περιορισμό του πολλαπλασιασμού και της διήθησης των RASFs, καθώς και των επιπέδων της MMP-3 (78). Σε miRNA αλληλούχηση σε RASFs προερχόμενους από διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκκρίνουν ανθρώπινο TNF βρέθηκε αύξηση της μεταγραφής του miR-155 (143). Η χορήγηση του μεταγραφικού παράγοντα PU.1 στους RASFs μείωσε τον πολλαπλασιασμό τους και την παραγωγή IL-1β και IL-6, ενώ, παράλληλα, περιόρισε τα επίπεδα του miR-155 μέσω έμμεσης αύξησης της FOXO3 (150). Με παρόμοιο τρόπο φαίνεται να δρα και η ραεοσολ, όταν αυτή χορηγείται στους RASFs (151). Ανοικτό μένει το ερώτημα αν αυτή η μείωση του miR-155 οδηγεί σε περιορισμό του πολλαπλασιασμού και της έκκρισης κυτταροκινών από τους RASFs ή αν αποτελεί τη συνέπεια αυτών.

Στους RASFs φαίνεται να υπάρχουν μειωμένα επίπεδα του **miR-188** (152). Το miR-188 πιθανότατα μειώνει τη μετανάστευση και διήθηση των RASFs στοχεύοντας την πρωτεΐνη CEMIP (παλαιότερα γνωστή ως KIAA1199), η οποία συνδέεται με το υαλουρονικό οξύ και συμβάλλει στον αποπολυμερισμό του (152). Συνεπώς, τα μειωμένα επίπεδα του miR-188 συμβάλλουν στη διήθηση των RASFs στον αρθρικό χόνδρο και τη δημιουργία διαβρώσεων.

Το **miR-192** έχει βρεθεί σε μειωμένη συγκέντρωση στους RASFs και τον αρθρικό υμένα ασθενών με PA (153). Οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ως στόχο του miR-192 την καβεολίνη 1. Η αύξηση των επιπέδων του miR-192 οδήγησε σε μείωση της μετάφρασης της καβεολίνης 1 και μείωση του πολλαπλασιασμού και αύξηση της απόπτωσης των RASFs. Συνεπώς, τα μειωμένα επίπεδα του miR-192 συμβάλλουν πιθανώς στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των RASFs.

Μειωμένο έχει βρεθεί και το **miR-199a** στους RASFs, σε σχέση με τους αρθρικούς ινοβλάστες των υγιών (154). Ο στόχος του miR-199a βρέθηκε να είναι η πρωτεΐνη RB1, ενώ η έκφραση του miR-199a βρέθηκε να μειώνει τον πολλαπλασιασμό και

να ενισχύει την απόπτωση των RASFs (154). Κατά συνέπεια, τα μειωμένα επίπεδα αυτού του miRNA στους RASFs συμβάλλουν στην αύξηση του πληθυσμού και την επιβίωση αυτών των κυττάρων.

Αυξημένα επίπεδα **miR-203** ανευρέθηκαν στους RASFs σε σχέση με αρθρικούς ινοβλάστες από ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ή υγιείς δότες (133, 155). Η αύξηση της μεταγραφής του miR-203 μέσω χορήγησης αζακιτιδίνης, ενός απομεθυλιωτικού παράγοντα, συσχετίστηκε με αύξηση της έκκρισης των MMP-1 και IL-6. Οι ερευνητές πιθανολογούν ότι το miR-203 ασκεί τη προφλεγμονώδη δράση του μέσω του μονοπατιού του NF-κΒ. Αντίθετα, σε μια μεταγενέστερη μελέτη, το miR-203 έχει ανευρεθεί μειωμένο στον αρθρικό υμένα ασθενών με PA, ενώ φάνηκε να συμμετέχει στη ρύθμιση του μονοπατιού BMP (156).

Ο *Liu* και συν. (2018) διαπίστωσαν μειωμένη έκφραση **miR-212** στον ορό, τον αρθρικό υμένα και τους RASFs από ασθενείς με PA (157). Σε in vitro πειράματα, τα αυξημένα επίπεδα miR-212 οδήγησαν τους RASFs σε μειωμένο πολλαπλασιασμό και αυξημένη απόπτωση. Στόχος του miR-212 βρέθηκε να είναι η πρωτεΐνη SOX5 και, μάλιστα, η αύξησή της ανέστρεψε τα αποτελέσματα του miR-212 στους RASFs (157).

Οι RASFs προέρχονται από πολυδύναμα προγονικά κύτταρα του μυελού των οστών και έχει φανεί ότι υπό ορισμένες συνθήκες μπορούν να εμφανίσουν οστεοβλαστικό φαινότυπο (158). Σε αυτό συμβάλλει το **miR-218** στοχεύοντας την ROBO και μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τα επίπεδα του DKK-1, ενός αναστολέα του μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης (158). Συνεπώς, το miR-218 προάγει την οστεοβλαστική διαφοροποίηση των RASFs. Άγνωστο, παραταύτα, είναι αν τα επίπεδά του είναι διαταραγμένα στους RASFs.

Ο *Pandis* και συν. (2012) μέτρησαν τα επίπεδα των miRNAs που παράγονται από RASFs ασθενών με PA, καθώς και από διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκκρίνουν ανθρώπινο TNF. Βρέθηκε κοινή υπερέκφραση συγκεκριμένων miRNAs και συγκεκριμένα των miR-146a, miR-155, miR-221, miR-222, miR-223, miR-323, εκ των οποίων μόνο τα **miR-221, miR-222, miR-323** διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταξύ PA και οστεοαρθρίτιδας (143). Τα 3 προαναφερθέντα miRNAs έδειξαν να εμπλέκονται σε διάφορα μονοπάτια, όπως εκείνα της αγγειογένεσης, της

ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων, του PDGF, των ιντεγκρινών, του RAS, του PI3K, αλλά κυρίως στα μονοπάτια Wnt και καντχερίνης, η διαταραχή των οποίων συμμετέχει στην παθογένεια της PA (145). Να σημειωθεί ότι το σύμπλοκο miR-221/miR-222 είναι γνωστό “ογκοmiRNA” (159). Σε άλλη μελέτη, ανιχνεύθηκαν στον φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα 22 miRNAs σημαντικά αυξημένα, 12 εκ των οποίων βρέθηκαν να στοχεύουν στα ενδοκυττάρια μονοπάτια που ενέχονται στον οστικό μεταβολισμό, κυρίως στα μονοπάτια του Wnt και της BMP, επηρεάζοντας τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και των χονδροκυττάρων (156). Στην ίδια μελέτη, φάνηκε ότι στους διεγερμένους με TNF RASFs το miR-221 ήταν αυξημένο, οδηγώντας σε μείωση της οστεοβλαστογένεσης και της επιμετάλλωσης της θεμέλια ουσίας του οστού. Τέλος, ο Yang και συν. (2015) παρατήρησαν και αυτοί αυξημένα επίπεδα miR-221 στους RASFs, ενώ μείωση του miR-221 οδήγησε σε μειωμένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και μεταλλοπρωτεϊνών, μείωσε τη μετανάστευση & διήθηση των RASFs, ενώ παράλληλα ενίσχυσε την απόπτωσή τους (160).

Τα επίπεδα του **miR-223** έχουν βρεθεί αυξημένα στους RASFs και σε αρθρικά μονοκύτταρα/μακροφάγα και T λεμφοκύτταρα από ασθενείς με PA και έχουν σχετιστεί με μειωμένη οστεοκλαστογένεση, πιθανώς στοχεύοντας τον μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B (109). Επιπρόσθετα, το συγκεκριμένο miRNA έχει βρεθεί αυξημένο στο αίμα σε ποντίκι με πειραματικό μοντέλο PA (161). Στην ίδια μελέτη, το miR-223 φάνηκε να προκαλεί μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης IL17RD και αύξηση της έκκρισης IL-6 από τους MH7A (ερευνητικό μοντέλο RASFs) (161). Η IL17RD είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη με άγνωστο συνδέτη που παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη δράση, δρώντας ανασταλτικά στο μονοπάτι του TLR και του NF- $\kappa$ B. Συνεργικά, λοιπόν, η καταστολή της παραγωγής IL17RD και η αύξηση της έκκρισης της IL-6 συμβάλλουν στην παθογένεια της PA ενισχύοντας τη φλεγμονή, ενώ, από την άλλη πλευρά, τα αυξημένα επίπεδα miR-223 φαίνεται να προστατεύουν από τις οστικές διαβρώσεις.

Στους RASFs έχει βρεθεί αυξημένο και το **miR-323**, όπως προαναφέρθηκε (143). Με μεθόδους βιοπληροφορικής έχει βρεθεί ότι η BTRC, που είναι αρνητικός ρυθμιστής της  $\beta$ -κατενίνης, είναι στόχος του miR-323. Συνεπώς, η αύξηση του miR-323 στους RASFs πιθανότατα συμβάλλει στην ενίσχυση του φλεγμονώδους μονοπατιού Wnt-καντχερίνης (143). Παρόλαυτα, δεν έχουν μελετηθεί ακριβώς τα

αποτελέσματα αυτής της αύξησης στους RASFs και στο γενικότερο μικροπεριβάλλον της άρθρωσης στη PA.

Μελετώντας το **miR-338** στους RASFs, ο Guo και συν. (2018) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδά του συγκεκριμένου miRNA (162). Συγκεκριμένα, στοχεύοντας τον NFAT5, τα αυξημένα επίπεδα του miR-338 φαίνεται ότι συμβάλλουν στον αυξημένο πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και διήθηση των RASFs (162). Τα αντίθετα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στους RASFs μετά από in vitro χορήγηση ανταγωνιστή του miR-338 (162).

Μια ερευνητική ομάδα από τη Γαλλία σε δύο μελέτες της ανέδειξε ότι το **miR-346** είναι αυξημένο στους RASFs (163, 164). Διεγερμένοι RASFs παράγουν αντιδραστικά miR-346, που μειώνει την παραγωγή της Btk, ο ρόλος της οποίας είναι να σταθεροποιεί το mRNA διαφόρων κυτταροκινών (163). Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα miR-346 έχουν συνδεθεί με αυξημένη έκφραση TTP, μιας πρωτεΐνης που συνδέεται στο mRNA του TNFα, με τελικό αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής του (164). Συνολικά, το miR-346 αυξάνεται αντιδραστικά στους RASFs, με σκοπό τη μείωση της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών από αυτούς, κυρίως TNFα και IL-18.

Από πειράματα σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας, έχει φανεί ότι το **miR-375** είναι μειωμένο στους RASFs (165). Ως στόχος του miR-375 αναγνωρίστηκε ο συνυποδοχέας FZD8, που είναι απαραίτητος για την ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt. Το miR-375 στοχεύοντας τον FZD8 αναστέλλει το μονοπάτι Wnt, ενώ, αντίστροφα, η β-κατενίνη εμποδίζει τη δράση του miR-375 (165). Συνεπώς, τα χαμηλά επίπεδα miR-375 στους RASFs συμβάλλουν στο φλεγμονώδη φαινότυπο αυτών των κυττάρων.

Στους RASFs τα επίπεδα του **miR-522** έχουν βρεθεί αυξημένα και, μάλιστα, σε αναλογία με τις τιμές του DAS28, της TKE, των anti-CCP, του TNFα και της IL-1β (166). Η χορήγηση αναλόγου miR-522 σε RASFs οδήγησε σε αύξηση της μεταγραφής (επίπεδα mRNA) και της μετάφρασης (επίπεδα πρωτεϊνών) των TNFα, IL-1β, MMP-1, MMP-3 και MMP-13 στους RASFs. Εν κατακλείδι, το miR-522 οδηγεί σε έκκριση προφλεγμονωδών κυτοκινών και μεταλλοπρωτεϊνών και αυτό φαίνεται να μεθοδεύεται μέσω μείωσης της μετάφρασης της SOCS3 (166).



Σε ασθενείς με PA έχουν βρεθεί μειωμένα επίπεδα **miR-539** στο περιφερικό αίμα και το αρθρικό υγρό, τα οποία συνδέθηκαν με αυξημένα επίπεδα OPN (167). Οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το mRNA της OPN είναι στόχος του miR-539, ενώ η αύξηση του miR-539 οδήγησε σε μείωση του πολ/σμού των MΗ7Α κυττάρων (πειραματικό μοντέλο RASFs).

Το **miR-650** έχει βρεθεί μειωμένο στους RASFs (168). Μάλιστα, αυτό ήταν αντιστρόφως ανάλογο με τα επίπεδα της AKT2, ενός ενζύμου που ανήκει στην οικογένεια των σερίνη/θρεονίνη-κινασών και είναι στόχος του miR-650. Η μείωση του miR-650 και η αύξηση της AKT2 συνοδεύονται από αυξημένο πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και διήθηση των RASFs, καθώς και μειωμένη απόπτωση τους (168).

Τέλος, το **miR-663** βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα στους RASFs και ευοδώνει τον πολλαπλασιασμό τους και την έκκριση MMP3 και φιμπρονεκτίνης από αυτούς (169). Στόχος του miR-663 δείχνει να είναι το γονίδιο του APC. Η αύξηση του miR-663 οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του APC και επακόλουθη ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt - βκατενίνης (169).

Εκτός από άμεση μεταβολή των επιπέδων miRNAs, έμμεσοι μηχανισμοί οδηγούν σε αλλαγές στην έκφραση miRNAs στους RASFs. Τα γονίδια που κωδικοποιούν για miRNAs μπορεί να αποτελούν και στόχους μεθυλίωσης ή ακετυλίωσης (170). Ένας, λοιπόν, από αυτούς τους μηχανισμούς είναι η μεθυλίωση του προαγωγέα του γονιδίου ενός miRNA (133), π.χ. του miR-124, που προκαλεί μείωση της μεταγραφής για το συγκεκριμένο miRNA και επακόλουθη αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης-στόχου. Παρεμπιπτόντως, η υπερμεθυλίωση του γονιδίου του **miR-124a** στους RASFs, που οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα του miR-124a στους RASFs, αναδείχτηκε και σε μεταγενέστερη μελέτη (171). Να σημειωθεί, επίσης, ότι η αναστροφή της υπερμεθυλίωσης με τη χορήγηση αζακιτιδίνης από την ίδια ερευνητική ομάδα οδήγησε σε αυξημένη έκφραση miR-124a, μειωμένη παραγωγή TNFα και μειωμένη διήθηση των RASFs. Τέλος, η αυξημένη μεθυλίωση του προαγωγέα του **miR-34a** οδηγεί σε μειωμένη έκφρασή του στους RASFs και σε επακόλουθη μείωση της απόπτωσής τους (172). Στην ίδια μελέτη, ως άμεσος στόχος του miR-34a αναγνωρίστηκε η πρωτεΐνη XIAP.

Ένας άλλος μηχανισμός είναι η μετα-μεταγραφική τροποποίηση των επιπέδων του miRNA. Έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση του DICER1 στους RASFs (173), κάτι που σημαίνει γενικότερα χαμηλή έκφραση miRNAs στους RASFs. Επίσης, ο Li και συν έδειξαν ότι το κυκλικό RNA (circular RNA – circRNA) hsa\_circ\_0001859 δρα σαν «σφουγγάρι» των **miR-204/211**, μειώνοντας τα επίπεδά τους και επιτρέποντας έτσι την αύξηση του προφλεγμονώδους μεταγραφικού παράγοντα ATF2 στα φλεγμαίνοντα συνοβιοκύτταρα τύπου SW982 (174). Τέλος, σε μια πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι το GAPLINC, ένα lncRNA που φαίνεται να έχει ρόλο και σε κακοήθειες του γαστρεντερικού συστήματος, ανευρίσκεται αυξημένο στους RASFs (175). Το GAPLINC συμβάλλει στον «επιθετικό» φαινότυπο των RASFs δρώντας ως «σφουγγάρι» που προσελκύει τα **miR-382** και **miR-575**, μειώνοντας τα επίπεδά τους και επιτρέποντας στα mRNA-στόχους των miRNA αυτών να μεταφραστούν (175).

Τέλος, μεταβολές έχουν βρεθεί και σε miRNAs που περιέχονται στα εκκρινόμενα από τους RASFs εξωσώματα. Προσφάτως, αναγνωρίστηκαν αυξημένα τα **miR-146a**, **miR-155**, **miR-323a** και **miR-1307** στα εξωσώματα από RASFs που διεγέρθηκαν με TNF $\alpha$  (176). Ενώ τα miR-146a και miR-155 βρέθηκαν αυξημένα και στα εξωσώματα και ενδοκυτταρίως στους RASFs, τα miR-323a και miR-1307 βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα μόνο στα εξωσώματα που προέρχονταν από τους RASFs (176). Επίσης, το miR-323a φαίνεται να στοχεύει την CD6, έναν διαμεμβρανικό συνδιεγέρτη των T λεμφοκυττάρων, και το miR-1307 στοχεύει την NDRG2, που αναστέλλει τη διαμεσολαβούμενη από τα μονοκύτταρα οστεοκλαστογένεση (176). Συνεπώς, οι RASFs εκκρίνουν εξωσώματα με στόχο από τη μία να περιορίσουν τη φλεγμονή και από την άλλη, αντίθετα, να ενισχυθεί η οστεοκλαστογένεση.

Συμπερασματικά, οι RASFs παρουσιάζουν ένα ξεχωριστό προφίλ έκφρασης miRNAs (**Πίνακας 4**). Τα περισσότερα από τα διαταραγμένα miRNAs οδηγούν σε έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών ή μεταλλοπρωτεϊνών, αυξημένο πολλαπλασιασμό και επιβίωση των RASFs, ενώ ορισμένα αυξάνονται αντισταθμιστικά ως προστατευτικός μηχανισμός μείωσης της φλεγμονής και της απώλειας οστού (110).

miRNA	Μεταβολή	Στόχος	Αποτέλεσμα στους RASFs
miR-10a	Μείωση	TBX5, IRAK4, TAK1, BTRC	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση, ↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή
miR-17	Μείωση	TRAF2	↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή
miR-18a	Αύξηση	TNFAIP-3	↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή
miR-19	Μείωση	TLR2 μονοπάτι	↑φλεγμονή
miR-20a	Μείωση	TXNIP, ASK1	↑φλεγμονή
miR-21	Αύξηση	NF-κB μονοπάτι	↑πολ/σμός
miR-22	Μείωση	Cyr61	↑πολ/σμός, ↑παραγωγή κυτοκινών
miR-23b	Μείωση	TAB2, TAB3, IKK-α	↑IL-17 διαμεσολαβούμενη φλεγμονή
miR-27a	Μείωση	FSTL1, TR4 μονοπάτι	↑μετανάστευση, ↑MMP
miR-29a	Μείωση	STAT3	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση
miR-30a	Μείωση	BAFF	↑επιβίωση Β λεμφοκυττάρων
miR-34a*	Μείωση	XIAP	↓απόπτωση
miR-124a	Μείωση	CDK2, MCP1	↑πολ/σμός, ↑χημειοταξία
miR-125b	Αύξηση	NF-κB μονοπάτι	↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή
miR-126	Αύξηση	PIK3R2	↓απόπτωση, ↑πολ/σμός, ↓TNFα/IFNγ
miR-137	Μείωση	CXCL12	↑πολ/σμός, ↑μετανάστευση, ↑παραγωγή κυτοκινών
miR-140	Μείωση	Sirtuin1, SCDF1	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση, ↑μετανάστευση
miR-143	Αύξηση	IGF1R, IGFBP5, Ras/p38 MAPK	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση, ↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή (↑IL-6)
miR-145	Αύξηση	SEMA3A	↑επιβίωση, ↑μετανάστευση
miR-146a	Αύξηση	IRAK-1? TRAF6?	?
miR-152	Μείωση	DNMT1, ADAM10	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση
miR-155	Αύξηση	JAK2/STAT3, IKBKE	↓IL-6 μεσολαβούμενης φλεγμονής, ↓πολ/σμός, ↓διήθηση, ↓παραγωγή MMPs
miR-188	Μείωση	CEMIP	↑μετανάστευση, ↑διήθηση
miR-192	Μείωση	Caveolin 1	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση
miR-199a	Μείωση	RB1	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση
miR-203	Αύξηση	NF-κB μονοπάτι	↑IL-6 μεσολαβούμενης φλεγμονής, ↑MMPs
miR-204	Μείωση	ATF2	↑φλεγμονή
miR-211	Μείωση	ATF2	↑φλεγμονή
miR-212	Μείωση	SOX5	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση
miR-218	?	ROBO1, Wnt/β-κατενίνη	↑οστεοβλαστική διαφοροποίηση RASFs
miR-221	Αύξηση	Wnt (Dkk2), BMP	↓οστεοβλαστογένεση & επιμετάλλωση, ↓απόπτωση, ↑παραγωγή κυτοκινών
miR-222	Αύξηση	Wnt/cadherin	↓οστεοβλαστογένεση, ↑πολ/σμός, ↑αγγειογένεση
miR-223	Αύξηση	NFI-A, Wnt/cadherin	↓οστεοκλαστογένεση, ↑παραγωγή κυτοκινών
miR-323	Αύξηση	Wnt/cadherin	?
miR-338	Αύξηση	NFAT5	↑πολ/σμός, ↑μετανάστευση, ↑διήθηση
miR-346	Αύξηση	Btk, TTP	↓παραγωγή κυτοκινών
miR-375	Μείωση	FZD8/Wnt	↑φλεγμονή
miR-522	Αύξηση	SOCS3	↑παραγωγή κυτοκινών, MMPs
miR-539	Μείωση	OPN	↑πολ/σμός
miR-650	Μείωση	AKT2	↑πολ/σμός, ↓απόπτωση, ↑μετανάστευση
miR-663	Αύξηση	APC	↑πολ/σμός ↑MMP, ↑NF-κB διαμεσολαβούμενη φλεγμονή

**Πίνακας 4.** Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στους RASFs, τα προτεινόμενα μόρια-στόχοι και τα αποτελέσματα αυτών των μεταβολών.

### 3.11. microRNAs και Αρθρικός Χόνδρος

Ο αρθρικός χόνδρος έχει ενεργή μεταβολική συμμετοχή στη PA. Εξωτερικοί και εσωτερικοί παράγοντες διαμορφώνουν το «επιγενετικό τοπίο» που επηρεάζει τη χονδρογένεση (177). Το **miR-23a** έχει βρεθεί μειωμένο στον αρθρικό χόνδρο των ασθενών με PA (178). Η μείωση αυτή φάνηκε να αυξάνει τα επίπεδα της κινάσης IKKα, η οποία συμμετέχει στον καταρράκτη του NF-κB και ευοδώνει τη φλεγμονώδη απάντηση. Η χορήγηση miR-23a στα αρθρικά χονδροκύτταρα μετά από διέγερσή τους με IL-17 είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή IL-6, MCP-1 και MMP-3 από αυτά (178). Επομένως, η μείωση του miR-23a στα χονδροκύτταρα συμβάλλει τις φλεγμονώδεις διεργασίες στις αρθρώσεις στη PA.

Εκτός αυτού, ο *Maeda* και συν. (2017) ανακάλυψαν μειωμένα επίπεδα **miR-145a** στους φλεγμαίνοντες αρθρικούς ιστούς (156). Το miR-145a στοχεύει στο μεταγραφικό παράγοντα Sox9, που, μεταξύ των άλλων, συμβάλλει στη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων. Συνεπώς, το miR-145a πιθανώς μειώνεται αντιρροπιστικά στη φλεγμονώδη αρθρίτιδα, ώστε να ευνοηθεί η διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων.

### 3.12. microRNAs και Οστικός Μεταβολισμός

Στο μικροπεριβάλλον της φλεγμαίνουσας άρθρωσης, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 3.10, μια σειρά από miRNAs επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό. Ο *Maeda* και συν. (2017) εξετάσαν αρθρικό ιστό από ποντίκια με ή χωρίς φλεγμονώδη αρθρίτιδα και διαπίστωσαν ότι στον φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα 22 miRNAs ήταν σημαντικά αυξημένα ή μειωμένα, 12 εκ των οποίων βρέθηκαν να ρυθμίζουν ενδοκυττάρια μονοπάτια που ενέχονται στον οστικό μεταβολισμό. Τα μονοπάτια που φαίνεται να συμμετέχουν είναι κυρίως εκείνα του Wnt και της BMP, επηρεάζοντας κυρίως τη διαφοροποίηση οστεοβλαστών και χονδροκυττάρων (156). Μεταξύ των διαταραγμένων miRNAs, μειωμένα βρέθηκαν τα **miR-133a**, **miR-145a**, **miR-204a**, τα οποία αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Το miR-133a και το miR-204a στοχεύουν τον Runx2, ενώ το miR-145a στοχεύει τον Osx. Είναι γνωστό ότι αμφότεροι οι Runx2 και Osx είναι μεταγραφικοί παράγοντες απαραίτητοι στην οστεοβλαστογένεση. Η μείωση των τριών αυτών miRNAs στη φλεγμονώδη αρθρίτιδα φαίνεται ότι ευνοεί τη διαφοροποίηση προς ώριμους οστεοβλάστες ως αντιστάθμισμα στην οστική απώλεια που συνοδεύει τη φλεγμονή.

Από την ίδια μελέτη, βρέθηκε αυξημένη έκφραση **miR-221** στους αρθρικούς ιστούς, η οποία συμβάλλει στην καταστολή της οστεοβλαστογένεσης μέσω στόχευσης του Dkk2 (156). Παρεμπιπτόντως, ανευρέθηκε αυξημένη έκκριση miR-221 σε εξωσώματα προερχόμενα από RASFs που διεγέρθηκαν με TNFα. Αυτή η παρατήρηση πιθανώς δείχνει πως η επικοινωνία RASFs – οστεοβλαστών μέσω εξωσωμάτων που περιέχουν συγκεκριμένα miRNAs είναι μέρος της παθοφυσιολογίας του οστικού μεταβολισμού στη PA.

Οι **οστεοβλάστες**, λοιπόν, εκτός από το να συνθέτουν θεμέλια ουσία και να συμβάλλουν στην επιμετάλλωσή της, συμμετέχουν ενεργά στη διακυτταρική επικοινωνία στο οστό. Επίσης, η οστεοποντίνη (OPN) είναι ένας παράγοντας που ευνοεί την οστεοκλαστογένεση. Σε μια μελέτη με ασθενείς με PA, η OPN φάνηκε να προκαλεί έκκριση IL-17 από τους οστεοβλάστες και, έτσι, να ευοδώνει την προσέλκυση μονοκυττάρων (179). Αυτό βρέθηκε να μεσολαβείται μέσω - προκαλούμενης από την OPN- μείωσης του **miR-129**, με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Μια άλλη μελέτη, χρησιμοποιώντας μεθόδους βιοπληροφορικής και μελετώντας οστεοβλάστες από ασθενείς με PA ανέδειξε δύο ζευγάρια miRNAs-mRNAs (**miR-146a**–LRRC15 και **miR-183**–AKAP12), που πιθανώς τροποποιούν τη λειτουργία των οστεοβλαστών (180). Για το πρώτο ζευγάρι δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα σχετικά την ακριβή επίδρασή του στην ομοιοστασία των οστεοβλαστών στη PA. Όσον αφορά το δεύτερο, η αύξηση του miR-183 και η επακόλουθη μείωση της παραγωγής AKAP12 συνδράμει στο διαταραγμένο οστικό μεταβολισμό που παρατηρείται στη PA. Συγκεκριμένα, η AKAP12 συνδέεται με το μονοπάτι της PKA και φαίνεται να ενέχεται στη χημειοταξία και τη νεοαγγειογένεση.

Εκτός από τους οστεοβλάστες, οι **οστεοκλάστες** παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στον οστικό μεταβολισμό στις προσβεβλημένες αρθρώσεις. Τα αυξημένα επίπεδα **miR-146a** που παρατηρούνται στα αρθρικά μακροφάγα (106) μειώνουν τη διαφοροποίησή τους σε πολυπύρηνες οστεοκλάστες, δηλαδή την οστεοκλαστογένεση, με τρόπο δοσοεξαρτώμενο, μειώνοντας έτσι το σχηματισμό οστικών διαβρώσεων (107). Ακόμα, στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα **miR-223** και η αύξηση αυτή συνδέεται με περιορισμό της οστεοκλαστογένεσης *in vitro*, πιθανώς μέσω καταστολής του NFI-A (109). Συμπερασματικά, η τοπική αύξηση του miR-146a και του miR-223 στη φλεγμαίνουσα άρθρωση είναι αντισταθμιστικός μηχανισμός, που προσπαθεί να

επιβραδύνει την οστική απορρόφηση και να μειώσει, έτσι, τις οστικές διαβρώσεις. Αντίθετα, το **miR-145** έχει βρεθεί αυξημένο στα PBMCs και τους αρθρικούς ιστούς ασθενών με PA, κάτι που συσχετίστηκε με αυξημένο αριθμό οστεοκλαστών, αυξημένα επίπεδα RANK, RANKL και περισσότερες οστικές διαβρώσεις (72).

Όπως έχει αναφερθεί και σε άλλα κεφάλαια, ορισμένα miRNAs συμβάλλουν στην αυξημένη παραγωγή **μεταλλοπρωτεϊνών**, οι οποίες βοηθούν στη μετανάστευση των RASFs, ενώ συμβάλλουν και στην παθογένεια των οστικών διαβρώσεων, μέσω διάσπασης της θεμέλιας ουσίας του παρακείμενου οστού (181). Στους RASFs, η αύξηση του miR-18 (119), του miR-203 (133, 155), του miR-221 (160), του miR-522 (166), του miR-663 (169), καθώς και η μείωση του miR-10 (117), του miR-17 (118), του miR-27a (101) και του miR-375 (169) οδηγούν σε αύξηση της έκκρισης διαφόρων μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-13). Αντίθετα, τα επίπεδα του miR-155 αυξάνονται στους RASFs σε μια προσπάθεια καταστολής της έκκρισης μεταλλοπρωτεϊνών από αυτούς (78, 144). Τέλος, η μείωση του miR-23a στα χονδροκύτταρα συμβάλλει και αυτή σε αυξημένη έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών (101).

## 4. ΤΑ microRNAs ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

### 4.1. Κλινικό Στάδιο της PA

Η έκφραση των miRNAs διαφέρει ανάλογα με το αν είναι πρώιμη (“early”) ή εγκατεστημένη (“established”) νόσος. Από τη μία, η *Filkova* και συν. (2014) έδειξαν ότι σε ασθενείς με **πρώιμη** PA ανευρίσκονται στατιστικά χαμηλότερα επίπεδα **miR-16, miR-146a και miR-155** στον ορό σε σχέση με ασθενείς με εγκατεστημένη PA (182). Σε μια άλλη μελέτη βρέθηκαν επίσης χαμηλά επίπεδα **miR-16** καθώς και μειωμένο **miR-223** στον ορό των ασθενών με πρώιμη RA, σε σχέση με τους ασθενείς με εγκατεστημένη νόσο και τους υγιείς (183). Από την άλλη, σε δείγματα αρθρικού υμένα από ασθενείς με **εγκατεστημένη** PA έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα **miR-146a, miR-155, and miR-223**, σε σχέση με ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα (184). Να σημειωθεί ότι στην τελευταία μελέτη δεν ελέγχθηκαν τα επίπεδα των προαναφερθέντων miRNAs σε ασθενείς με πρώιμη PA. Τέλος, οι ασθενείς με εγκατεστημένη νόσο φαίνεται να έχουν αυξημένα επίπεδα **miR-16** σε σχέση με τους υγιείς (183).

### 4.2. Βαρύτητα Κλινικής Εικόνας

Πολυμορφισμοί του **miR-499** και του **miR-196a2** έχουν συσχετισθεί με τη βαρύτητα της PA, όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2. Οι ομοζυγώτες AA για τον πολυμορφισμό rs3746444 (A/G) του miR-499 καθώς και όσοι φέρουν το αλληλίο C του SNP rs11614913 (C/T) του miR-196a2 έχουν βρεθεί να έχουν στατιστικά υψηλότερη ενεργότητα νόσου μεταξύ Αιγυπτίων ασθενών με PA (40). Επίσης, μια άλλη μελέτη σε αιγυπτιακό πληθυσμό ανέδειξε ότι οι ετεροζυγώτες CT για τον rs3746444 (T/C) του miR-499 είχαν βαρύτερη νόσο και υψηλότερη ενεργότητα σε σχέση με τους ομοζυγώτες CC και TT (39), κάτι που είχε νωρίτερα αναδειχθεί και σε κινέζους ασθενείς με PA (35).

Μειωμένα επίπεδα του VIP έχουν συσχετισθεί με χειρότερη κλινική έκβαση των ασθενών με PA (185). Η διαφορετική έκφραση του VIP και η σύνδεση με την κλινική εικόνα της αρθρίτιδας φαίνεται ότι συνδέεται με την ύπαρξη SNPs στα αλληλία του VIP. Συγκεκριμένα, ασθενείς με πρώιμη PA και ομοζυγωτία CC στο αλληλίο rs688136 παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα VIP στον ορό και καλύτερη κλινική

πορεία της αρθρίτιδας (186). Αυτό ίσως οφείλεται και στο γεγονός ότι το **miR-205** (που στοχεύει το mRNA του VIP) συνδέεται λιγότερο στο mRNA με το αλληλίο που φέρει κυτοσίνη (C) αντί θυμίνης (T), αφήνοντας έτσι λιγότερα αντίγραφα mRNAs του VIP να μεταφραστούν, οδηγώντας σε μεγαλύτερη έκκριση VIP (186).

Μετρώντας τα επίπεδα του **miR-24** στο πλάσμα ασθενών με PA και υγιών, ο *Murata* και συν. (2013) βρήκαν ότι το miR-24 είναι στατιστικά σημαντικά αυξημένο στους ασθενείς με PA (187). Επίσης, διαπίστωσαν ότι τα επίπεδά του ακολουθούν τη CRP και το DAS28, υποδηλώνοντας ότι όσο πιο ενεργή είναι η νόσος τόσο μεγαλύτερα τα επίπεδα του κυκλοφορούντος miR-24. Από την ίδια ερευνητική ομάδα λίγα χρόνια νωρίτερα είχε φανεί ότι η συκέντρωση του **miR-16** στο πλάσμα είναι αντιστρόφως ανάλογη του DAS28 (δηλαδή της ενεργότητας της νόσου), χωρίς όμως να συσχετίζεται με τους δείκτες φλεγμονής (TKE, CRP) (54). Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις των miR-16, miR-132, miR-146a, miR-155 και miR-223 στο αρθρικό υγρό φάνηκε να μην συνδέονται με την κλινική εικόνα της PA (54).

Τα επίπεδα του **miR-125b** στα PBMCs (αλλά όχι στο πλάσμα) των ασθενών με PA έχουν συσχετισθεί με την κλινική εικόνα της νόσου (71). Συγκεκριμένα, όσο χαμηλότερα είναι τα επίπεδά του στα PBMCs των ασθενών που δεν έχουν λάβει θεραπεία, τόσο μεγαλύτερος μετράται ο δείκτης DAS28, δηλαδή τόσο αυξημένη είναι η ενεργότητα της PA.

Σε μια μελέτη που προαναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 3.5, ο *Pauley* και συν. (2008) διεπίστωσαν ότι υψηλά επίπεδα **miR-146a** και **miR-16** στα PBMCs ασθενών με PA συσχετίστηκαν με ενεργή νόσο, ενώ χαμηλά επίπεδα αυτών των miRNA συνδυάστηκαν με ύφεση της PA (73). Επίσης, όσο υψηλότερα ήταν τα επίπεδα του miR-146a, τόσο αναλογικά αυξημένη βρέθηκε η TKE, το DAS28, αλλά και ο TNF $\alpha$  στον ορό των ασθενών. Αντίθετα με τα PBMCs, τα Tregs των ασθενών με υψηλή ενεργότητα νόσου παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα miR-146a (94). Μάλιστα, στους ασθενείς με χαμηλή ενεργότητα νόσου τα επίπεδα του miR-146a στα Tregs δεν διαφέρουν σημαντικά από εκείνα των υγιών (94).

Μελετώντας τα επίπεδα του **miR-155** στα PBMCs ασθενών με ενεργή νόσο ο *Li* και συν. (2013) διαπίστωσαν ότι όσο υψηλότερα τα επίπεδα του miR-155 στα PBMCs, τόσο υψηλότερη ήταν η TKE, αλλά και ο DAS28 (77). Παρόμοια συσχέτιση υπήρχε



και με τα επίπεδα του TNFα και της IL-1β στον ορό. Παρεμπιπτόντως, αυτή η σχέση δεν επηρεάστηκε από την παρουσία RF ή ACPAs, ούτε από το φύλο των ασθενών. Από την άλλη, σε μια άλλη μελέτη, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των κυκλοφορούντων **miR-16**, **miR-132**, **miR-146** και **miR-155** και των δεικτών φλεγμονής, ούτε και με τον αριθμό επώδυνων & διογκωμένων αρθρώσεων, συνεπώς η μέτρησή τους στον ορό ίσως να μην μπορεί να χρησιμεύσει στην εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου (182). Αυτά τα ευρήματα έρχονται σε αντιδιαστολή με τα αποτελέσματα του *Maksoud* και συν. (2017), οι οποίοι βρήκαν αυξημένα επίπεδα miR-155 στον ορό, τα οποία ήταν ανάλογα με εργαστηριακές και κλινικές παραμέτρους. (188).

Μελετώντας 7 ασθενείς με PA σε ύφεση και 8 ασθενείς με έξαρση ο *Fernández-Ruiz* και συν. (2018) διεπίστωσαν στατιστικά αυξημένα επίπεδα στο **miR-194** στο πλάσμα των ασθενών με έξαρση της νόσου (189). Επίσης, παρατήρησαν ότι όσοι ασθενείς δεν κατάφεραν να μπουν σε ύφεση παρά τη θεραπεία (αρχικά με tofacitinib και μετά με μεθοτρεξάτη μονοθεραπεία, βάσει του σχεδιασμού της μελέτης) είχαν υψηλά επίπεδα **miR-432** στον ορό.

Τα επίπεδα του **miR-210** στα PBMCs δεν διέφεραν ανάμεσα σε ασθενείς με PA και υγιείς μάρτυρες, αλλά ασθενείς με ενεργή PA είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα miR-210, σε σχέση με εκείνους σε ύφεση (83). Συνεπώς, σύμφωνα με τους ερευνητές, το miR-210 δεν είναι χρήσιμος σαν διαγνωστικός δείκτης, αλλά τα επίπεδά του διαφέρουν ανάλογα με την ενεργότητα της νόσου. Συμπληρωματικά, στη μελέτη του *Maksoud* και συν. (2017) που αναφέρθηκε νωρίτερα φάνηκε ότι το miR-210 στο πλάσμα είναι μειωμένο στους ασθενείς με PA και, μάλιστα, όσο χαμηλότερα επίπεδα είχε, τόσο πιο ενεργή ήταν η νόσος (188).

Εκτός από τα προαναφερθέντα miRNAs, τα επίπεδα των **miR-221** και **miR-222** στα PBMCs είναι ανάλογα της ενεργότητας της νόσου (84). Συγκεκριμένα, τα επίπεδά τους είναι πιο αυξημένα σε ασθενείς με μεγάλη ενεργότητα νόσου σε σχέση με εκείνους με μέτρια ενεργότητα, ενώ ακόμα μεγαλύτερη είναι η διαφορά σε σχέση με εκείνους με μικρή ενεργότητα της PA. Επίσης, τα επίπεδα του κυκλοφορούντος **miR-223** έχουν συσχετιστεί με τα επίπεδα της CRP και το δείκτη DAS28 σε ασθενείς που δεν έχουν πάρει θεραπεία (182). Αυτό σημαίνει ότι όσο υψηλότερα βρέθηκαν τα επίπεδα του miR-223 στον ορό, τόσο πιο ενεργή ήταν η PA. Επιπρόσθετα, η

*Smigielska-Czepiel* και συν. (2014) βρήκαν ότι ο τίτλος του **miR-451** στα κυκλοφορούντα Τ λεμφοκύτταρα των ασθενών με ΡΑ είναι ανάλογος της ΤΚΕ, του DAS28 και της συγκέντρωσης της IL-6 στον ορό (98). Εκτός αυτού, στους RASFs ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα **miR-522** και, μάλιστα, σε αναλογία με τις τιμές του DAS28, της ΤΚΕ, των anti-CCP, του TNFα και της IL-1β (166). Συνεπώς, όσο μεγαλύτερα είναι τα επίπεδα του miR-223 στον ορό, του miR-451 στα κυκλοφορούντα Τ λεμφοκύτταρα και του miR-522 στους RASFs, τόσο μεγαλύτερη η ενεργότητα της ΡΑ.

Τέλος, μελετώντας δείγματα αίματος από 76 ασθενείς με ΡΑ ο *Wang* και συν. (2018) ανακάλυψαν ότι τα επίπεδα του **miR-548a** στα εξωσώματα του ορού και στα PBMCs ήταν αντιστρόφως ανάλογα με τις συγκεντρώσεις του RF, της CRP και της τιμής της ΤΚΕ (86). Αυτό σημαίνει ότι όσο χαμηλότερα τα επίπεδα του miR-548a, τόσο μεγαλύτερης βαρύτητας ήταν η νόσος.

Ανακεφαλαιώνοντας, αυξημένα επίπεδα miR-24, miR-194, miR-223 και μειωμένα επίπεδα miR-210 στον ορό φαίνεται να συνδέονται με πιο ενεργή νόσο.

### **4.3. microRNAs στη Διάμεση Πνευμονική Νόσο**

Σε ένα ποσοστό ασθενών με ΡΑ, ιδίως «οροθετικής» ΡΑ, αναπτύσσεται διάμεση πνευμονική νόσος (Interstitial Lung Disease – ILD). Η συνύπαρξη ILD αποτελεί σημαντικό παράγοντα νοσηρότητας για τους ασθενείς με ΡΑ.

Χρησιμοποιώντας δείγμα περιφερικού αίματος ασθενών με ΡΑ ο *Oka* και συν. (2017) συνέκριναν τα επίπεδα κυκλοφορούντων miRNAs ανάμεσα σε εκείνους που είχαν αναπτύξει ILD και σε εκείνους που δεν είχαν αναπτύξει (190). Εκ των εξετασθέντων, το **miR-7** και το **miR-214** βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με ILD. Από την άλλη, τα επίπεδα του **miR-200** στο περιφερικό αίμα δεν διέφεραν ανάμεσα σε ασθενείς με ILD λόγω ΡΑ και σε ασθενείς με «ιδιοπαθή» ILD και, συνεπώς, δεν μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε επίπεδο διαφορικής διάγνωσης (191).

#### 4.4. microRNAs, Υπεραλγησία και Περιφερική Νευροπάθεια

Μια σημαντική συνιστώσα της κλινικής εικόνας της PA είναι το άλγος που αισθάνονται οι ασθενείς, το οποίο πολλές φορές δεν είναι ευθέως ανάλογο της ενεργότητας της νόσου. Ποικίλοι παράγοντες επηρεάζουν το αίσθημα του άλγους που αισθάνονται οι ασθενείς με PA. Έχει βρεθεί ότι σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας υπάρχει χαμηλός ουδός άλγους και αυτό ίσως οφείλεται στα χαμηλά επίπεδα **miR-143** που παρατηρήθηκαν στον ορό και στα νωτιαία γάγγλια (192). Αυτό βασίζεται στο ότι η χορήγηση αναλόγου του miR-143 οδήγησε σε μειωμένη έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με το φλεγμονώδες άλγος, ενώ η χορήγηση αναστολέα του miR-143 είχε τα αντίθετα αποτελέσματα.

Μία άλλη παράμετρος που επηρεάζει την ποιότητα ζωής των ασθενών είναι η περιφερική νευροπάθεια που προσβάλλει ορισμένους ασθενείς με PA. Όταν συγκρίθηκαν τα επίπεδα στον ορό έξι miRNAs μεταξύ ασθενών με PA με ή χωρίς περιφερική νευροπάθεια φάνηκε ότι εκείνοι που έπασχαν από περιφερική νευροπάθεια παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά χαμηλά επίπεδα **miR-9** (193). Επιπρόσθετα, όταν κύτταρα Schwann διεγέρθηκαν με TNFα και IL-6, διαπιστώθηκε αυξημένη απόπτωσή τους και πτώση των επιπέδων του miR-9 σε αυτά (193). Τα ευρήματα αυτά ίσως υποδηλώνουν ότι το miR-9 διαδραματίζει νευροπροστατευτικό ρόλο στους ασθενείς με PA και αυτή η δράση του φαίνεται να σχετίζεται με τον άξονα REST/miR-132 στα κύτταρα Schwann (193).

## 5. ΤΑ microRNAs ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Η διάγνωση της αδιαφοροποίητης αρθρίτιδας μπαίνει σε ασθενείς με φλεγμονώδη αρθρίτιδα στους οποίους ο RF και τα ACPAs είναι αρνητικά και δεν πληρούν τα κριτήρια της PA. Ένα ποσοστό από αυτούς αργότερα θα πληρούν τα κριτήρια της PA και θα χαρακτηριστούν ως πάσχοντες από «οροαρνητική PA». Εκτός αυτού, η έγκαιρη διάγνωση και έναρξη θεραπείας συμβάλλει στον καλύτερο έλεγχο της νόσου, στην πρόληψη μόνιμων αρθρικών βλαβών και στη μείωση των επιπλοκών της PA. Συνεπώς, αδήριτη είναι η ανάγκη να βρεθούν βιοδείκτες που θα επιτρέπουν την πρώιμη διάγνωση της PA ώστε να γίνει και πρώιμη έναρξη θεραπείας.

Ο *Alivernini* και συν. (2018) μελέτησαν 42 ασθενείς με αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα με υπέρηχο, ανοσοϊστοχημικούς δείκτες και miRNA προφίλ σε δείγματα αρθρικού υμένα από φλεγμαίνουσες αρθρώσεις. Βρήκαν ότι τα **miR-214** και **miR-346** ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα σε εκείνους που αργότερα στην παρακολούθηση ανέπτυξαν φλεγμονώδη αρθρίτιδα που να πληροί κριτήρια οροαρνητικής PA ή οροαρνητικής περιφερικής σπονδυλοαρθροπάθειας (194). Παραταύτα, δεν ξεχώρισαν τις δύο προαναφερθείσες ομάδες ως προς την miRNA έκφραση, ώστε να υπάρχει πρώιμη αναγνώριση των ασθενών που ανέπτυξαν PA από αυτούς που ανέπτυξαν περιφερική σπονδυλοαρθροπάθεια, πιθανώς λόγω του μικρού αριθμού ατόμων. Επιπρόσθετα, η *Kurowska* και συν. (2018) παρακολούθησαν 10 ασθενείς με πρώιμη αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα για 4 χρόνια και διεπίστωσαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα **miR-371b**, **miR-483**, **miR-642b** και μειωμένα επίπεδα **miR-25** και **miR-378d** στα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα αυτών των ασθενών που τελικά ανέπτυξαν PA (195). Αυτές οι διαταραχές συνοδεύτηκαν, μάλιστα, και από αυξημένα επίπεδα IL-15 και M-CSF στον ορό αυτών των ασθενών.

Η ανεύρεση θετικού RF ή ACPAs στον ορό δεν επαρκεί για τη διάγνωση της PA. Ένα ποσοστό του γενικού πληθυσμού παρουσιάζει θετικά τα προαναφερθέντα αντισώματα χωρίς να νοσεί από PA, ενώ, αντίθετα, ένα ποσοστό ασθενών με PA πάσχει από τη λεγόμενη «οροαρνητική» μορφή της νόσου. Στην κλινική πράξη συχνά αντιμετωπίζονται διαφοροδιαγνωστικά διλήμματα σε ασθενείς με κλινική εικόνα αρθρίτιδας, ιδίως αν δεν πληρούνται τα κριτήρια ταξινόμησης της PA. Επίσης, από πολλές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα των κυκλοφορούντων

miRNAs παρουσιάζουν διαφορές ανάμεσα στους ασθενείς με PA και στους υγιείς (Πίνακας 5). Από την άλλη, όμως, σε αρκετές μελέτες με miRNAs δεν μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ ασθενών με PA και ασθενών με οστεοαρθρίτιδα (196). Συνεπώς, τα τελευταία χρόνια έχει τεθεί το ερώτημα διεθνώς αν τα κυκλοφορούντα στο πλάσμα miRNAs μπορούν, ως βιοδείκτες, να συμβάλλουν στη διάγνωση της PA (197).

Σε μια μελέτη με λίγους κινέζους ασθενείς με ενεργή PA χωρίς θεραπεία, αναλύοντας τις συγκεντρώσεις 1800 miRNAs στο περιφερικό αίμα φάνηκε ότι οι ασθενείς με PA παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα **miR-181d**, **miR-4634** και **miR-4764**, ενώ μειωμένα βρέθηκαν τα επίπεδα των **miR-9**, **miR-122**, **miR-219-2**, **miR-342**, **miR-3925** και **miR-3926** (198). Τέσσερα miRNAs εξ αυτών, συγκεκριμένα τα miR-122, miR-342, miR-3925 και miR-4764, κατάφεραν να ξεχωρίσουν καλύτερα τους ασθενείς με PA, σε σχέση με υγιείς αλλά και ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και νόσο Graves. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα εννέα προαναφερθέντα miRNAs δεν διαφέρουν ανάλογα με το ποιοι έχουν ενεργή νόσο και ποιοι βρίσκονται σε ύφεση, παρότι τα miR-9, miR-219-2, miR-4634 και miR-4764 παρουσίασαν συσχέτιση με εργαστηριακές ή κλινικές παραμέτρους. Παραταύτα, ο συνδυασμός των διαταραχών αυτών των 9 miRNAs παρουσίασε υψηλή διαγνωστική ακρίβεια στο διαχωρισμό ασθενών με PA από υγιείς (AUC 0.964, 95% διάστημα εμπιστοσύνης 0.932 - 0.997,  $P < 0.0001$ ). Να σημειωθεί, τέλος, ότι οι ερευνητές δεν εξέτασαν αν υπάρχει διαφορά στις συγκεντρώσεις των εννέα αυτών miRNAs ανάμεσα στους ασθενείς με «οροθετική» και εκείνους με «οροαρνητική» PA.

Από την άλλη, συγκρίνοντας τις συγκεντρώσεις miRNAs στον ορό από 102 Ιάπωνες ασθενείς με εγκατεστημένη PA, 24 ασθενείς με OA, 11 ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και 104 ομοεθνείς τους υγιείς, ο *Murata* και συν. (2013) περιγράφουν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα **miR-24** και **miR-125a** στους ασθενείς με PA και, μάλιστα, ανεξαρτήτως παρουσίας θετικών ACPAs ή μη (187). Χωριστά το καθένα, το miR-24 και το miR-125a παρουσιάζουν 64-65% ευαισθησία και 90% ειδικότητα στη διάκριση ασθενών με PA και υγιών. Από την ίδια ομάδα είχε δημοσιευτεί παλιότερα ότι δεν ανευρέθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση των miR-16, miR-132, miR-146a, miR-155 και miR-223 στο περιφερικό αίμα μεταξύ ασθενών PA και OA, ενώ το **miR-132** παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ελαττωμένα επίπεδα

στους ασθενείς με PA, σε σχέση με τους υγιείς (54). Αντίθετα, παρατήρησαν ότι τα επίπεδα των miR-16, miR-146a, miR-155 και miR-223 στο αρθρικό υγρό ήταν αυξημένα στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους ασθενείς με OA. Μελετώντας το **miR-132** ως πιθανό βιοδείκτη για τη διάγνωση της PA, αυτό παρουσίαζε ευαισθησία 83,8% και ειδικότητα 80,7% για τη διάκριση των ασθενών με PA από τους υγιείς, όμως δεν μπορούσε να ξεχωρίσει ασθενείς με PA από ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα. Πρέπει να αναφερθεί, τέλος, ότι οι τιμές των miR-16, miR-132, miR-146a και miR-223 στο αρθρικό υγρό των ασθενών με PA ανευρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερες με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις τους στο περιφερικό αίμα.

Σε συνέχεια των ανωτέρω, σε 168 ασθενείς με PA από τις ΗΠΑ μετρήθηκαν στον ορό τα παρακάτω miRNAs: **miR-15a, miR-24, miR-26a, miR-125a, miR-146a, miR-155 και miR-223** (199). Και τα επτά αυτά miRNAs βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές. Συγκεκριμένα, ο συνδυασμός της αύξησης των **miR-24, miR-26a και miR-125a** στον ορό παρουσίασε τη μεγαλύτερη διαγνωστική ακρίβεια για τη PA, είτε στη διάκριση όλων των ασθενών με PA από τους υγιείς (AUC=0.747), είτε εξετάζοντας τους ασθενείς με «οροαρνητική» PA (AUC=0.764). Επίσης, εξετάζοντας τα επτά αυτά miRNA χωριστά, το miR-24 παρουσίασε την υψηλότερη διαγνωστική ακρίβεια. Παρεμπιπτόντως, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των εξετασθέντων miRNAs και της ανάπτυξης υποκλινικής αθηροσκλήρυνσης, ούτε και της δραστηριότητας της νόσου (με την εξαίρεση της συγκέντρωσης του miR-155 που είχε μια μικρή αντίστροφη συσχέτιση με τον αριθμό των διογκωμένων αρθρώσεων).

Σε μια μελέτη με канаδούς ασθενείς με PA, ο *Anaparti* και συν. (2017) μελετώντας το ολικό RNA του πλάσματος ασθενών με εγκατεστημένη «οροθετική» PA (μέση διάρκεια νόσου 12 έτη) βρήκαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα **miR-26b, miR-103a, miR-146a και miR-155**, καθώς και μειωμένα επίπεδα **miR-346** (62). Οι ερευνητές εξέτασαν το **miR-103a** του πλάσματος ως πιθανό βιοδείκτη για διάγνωση οροθετικής PA και βρήκαν ότι αυτός παρουσίαζε 67% ευαισθησία και 92% ειδικότητα.

Όσον αφορά τη συγκέντρωση του **miR-125b** στο πλάσμα των ασθενών με PA, προς το παρόν, δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα. Η *Hruskova* και συν. (2016) μελετώντας τη συγκέντρωση του miR-125b στο πλάσμα και τα PBMCs 58 ασθενών

με πρώιμη PA που δεν είχαν λάβει θεραπεία διαπίστωσαν ότι ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένο σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές (71). Από την άλλη ο *Zhang* και συν. (2017) ανακάλυψαν αυξημένα επίπεδα miR-125b στο πλάσμα, τους αρθρικούς ιστούς και τους RASFs, χωρίς, όμως, να περιγράφουν τα χαρακτηριστικά των 20 ασθενών που μελέτησαν (135). Συνεπώς, χρειάζεται περαιτέρω έρευνα ώστε να ξεκαθαριστεί αν το miR-125b μπορεί να χρησιμεύσει ως διαγνωστικός δείκτης στη PA.

Όπως για το miR-125b, έτσι και για τα επίπεδα του **miR-146a** στο πλάσμα υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα. Από τη μία, έχει βρεθεί στατιστικά σημαντικά αυξημένο στους ασθενείς με PA και σε συγγενείς πρώτου βαθμού αυτών (62, 199). Από την άλλη, σε μια μελέτη της *Filkova* και συν. (2014) έχει βρεθεί μειωμένο στην πρώιμη PA και μη στατιστικά σημαντικά διαφορετικό μεταξύ υγιών και ασθενών με εγκατεστημένη PA (182), ενώ σε μία άλλη μελέτη έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικά χαμηλά επίπεδα miR-146a σε ασθενείς με PA που δεν έχουν λάβει αναστολείς TNF (43). Τέλος, μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 μελετών που συμπεριέλαβε 683 ασθενείς με PA και 477 ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ως μάρτυρες έδειξε ότι οι ασθενείς με PA έχουν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα miR-146a στο πλάσμα, το αρθρικό υγρό και τους αρθρικούς ιστούς, κάτι που συσχετίστηκε με τα επίπεδα της ΤΚΕ, αλλά όχι με το δείκτη ενεργότητας DAS28 (200).

Εκτός αυτού, σε μια μελέτη από την Αίγυπτο έγινε μέτρηση του **miR-155** και του **miR-210** στο πλάσμα 100 ασθενών με PA και 100 υγιών εθελοντών. Το miR-155 βρέθηκε αυξημένο, ενώ το miR-210 βρέθηκε μειωμένο στο πλάσμα των ασθενών με PA, σε σχέση με τους υγιείς (188). Τα δύο αυτά miRNAs συσχετίστηκαν, επίσης, με τη συγκέντρωση των TNFα, IL-1β, RF, ACPAs, CRP, ΤΚΕ, καθώς και με κλινικές παραμέτρους (πλήθος διογκωμένων και πλήθος ευαίσθητων αρθρώσεων). Επίσης, το miR-155 έχει βρεθεί στατιστικά σημαντικά αυξημένο στο πλάσμα ασθενών με PA και από άλλη ερευνητική ομάδα (62).

Εκτός των προαναφερθέντων miRNAs, έχουν βρεθεί αλλαγές στη συγκέντρωση και άλλων miRNAs στον ορό των ασθενών με PA. Πρώτον, έχει βρεθεί μειωμένο το **miR-10a** (201), **miR-27a** (101), το **miR-29a** (128), το **miR-124** (202), το **miR-126** (138), το **miR-152** (148) και το **miR-212** (157), ενώ αυξημένο είναι το **miR-221** (160), το miR-488 (202), το **miR-499** (41) και **miR-551b** (202). Ακόμα, το **miR-548a** έχει

βρεθεί μειωμένο στα εξωσώματα του πλάσματος ασθενών με PA (86). Το **miR-5196** έχει βρεθεί στατιστικά αυξημένο στον ορό των ασθενών με PA και πριν και μετά από τη θεραπεία, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (203). Αξίζει, τέλος, να αναφερθεί ότι σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας έχουν βρει αυξημένα στον ορό τα **miR-142**, **miR-155** και **miR-223** (204). Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται για να διερευνηθεί η δυνατότητα χρησιμοποίησης αυτών των miRNAs στη διάγνωση της PA.

Τέλος, μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση αφορά τη διάκριση «οροθετικών» - «οροαρνητικών» ασθενών. Φαίνεται ότι το **let-7a** των περιφερικών μονοκυττάρων εκφράζεται πολύ λιγότερο στους ACPA (+) ασθενείς, κάτι που δεν συμβαίνει στους ACPA (-) ασθενείς (64). Επίσης, τα επίπεδα του let-7a βρέθηκαν αντιστρόφως ανάλογα του τίτλου του RF.

Όπως συνάγεται από τις προαναφερθείσες μελέτες, κάποιες από τις παραπάνω μεταβολές στις συγκεντρώσεις των miRNAs στο πλάσμα θα μπορούσαν να συμβάλλουν στη διάγνωση της PA, ενώ για κάποιες άλλες απαιτείται περαιτέρω έρευνα. Τα ισχυρότερα δεδομένα υπάρχουν για το **miR-24**, το **miR-125a** και, πιθανώς, το **miR-155**, η αύξηση των οποίων στο περιφερικό αίμα θα μπορούσε να χρησιμεύσει στη διάγνωση της PA.



<b>miRNA</b>	<b>Μεταβολή</b>
miR-9	Μειωμένο
miR-10a	Μειωμένο
miR-15a	Αυξημένο
miR-24	Αυξημένο
miR-26a, miR-26b	Αυξημένο
miR-27a	Μειωμένο
miR-29a	Μειωμένο
miR-103a	Αυξημένο
miR-122	Μειωμένο
miR-124	Μειωμένο
miR-125a	Αυξημένο
miR-125b	Αυξημένο/Μειωμένο
miR-126	Μειωμένο
miR-132	Μειωμένο
miR-143	Μειωμένο
miR-146a	Αυξημένο
miR-155	Αυξημένο
miR-181d	Αυξημένο
miR-210	Μειωμένο
miR-212	Μειωμένο
miR-219-2	Μειωμένο
miR-221	Αυξημένο
miR-223	Αυξημένο
miR-342	Μειωμένο
miR-346	Μειωμένο
miR-448	Αυξημένο
miR-499	Αυξημένο
miR-548a	Μειωμένο
miR-551b	Αυξημένο
miR-3925	Μειωμένο
miR-3926	Μειωμένο
miR-4634	Αυξημένο
miR-4764	Αυξημένο
miR-5196	Αυξημένο

**Πίνακας 5.** Μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs στο πλάσμα ασθενών με PA, σε σχέση με τους υγιείς.

## 6. microRNAs ΚΑΙ Η ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Η θεραπεία της RA βασίζεται στη χορήγηση ανοσοκατασταλτικών & ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων, η αποτελεσματικότητα των οποίων αρχίζει να εμφανίζεται μετά από εβδομάδες από την έναρξη της αγωγής. Η μη ανταπόκριση μετά από ένα διάστημα ολίγων εβδομάδων ή μηνών χρήσης ενός φαρμάκου θεωρείται «πρωτογενής αστοχία», ενώ η απώλεια της αποτελεσματικότητας ενός φαρμάκου που δρούσε θεραπευτικά επί μακρό χρονικό διάστημα ονομάζεται «δευτερογενής αστοχία». Η αξιολόγηση της ανταπόκρισης σε μια θεραπεία βασίζεται σε κλινικές (διογκωμένες ή ευαίσθητες αρθρώσεις, γνώμη ασθενούς) και εργαστηριακές παραμέτρους (ΤΚΕ, CRP). Λόγω της καθυστερημένης έναρξης δράσης των συμβατικών και των βιολογικών DMARDs, αλλά και του μεγάλου κόστους των δεύτερων, μεγάλη προσπάθεια καταβάλλεται για να ανακαλυφθούν βιοδείκτες που μπορεί να «προβλέπουν» ποιοι ασθενείς θα ανταποκριθούν (“responders”) και ποιοι όχι (“non-responders”) στην έναρξη μιας συγκεκριμένης φαρμακευτικής αγωγής. Παρακάτω θα αναφερθούν ορισμένα miRNAs που φαίνεται να συνδέονται με το ποιοι ασθενείς θα είναι “responders” σε μια συγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή. Τα εν λόγω miRNAs θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί βιοδείκτες στην κλινική πράξη.

### 6.1. Συμβατικά (Μη-Βιολογικά) DMARDs

Η πρώτη μελέτη που ασχολήθηκε με τη μεταβολή των miRNAs σε σχέση με τη θεραπεία της RA ήταν της Filkova και συν, όπου μετρήθηκαν τα επίπεδα των miR-16, miR-124a, miR-132, miR-146a, miR-155, miR-203 και miR-223 στον ορό πριν, τρεις μήνες μετά και δώδεκα μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας, σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα RA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υψηλότερα επίπεδα **miR-16** και **miR-223** προ θεραπείας συνδυάστηκαν με καλύτερη ανταπόκριση της αρθρίτιδας (μείωση του δείκτη DAS28), ενώ η αύξηση των επιπέδων του miR-16 τους 3 πρώτους μήνες της θεραπείας συνδυάστηκε με κλινική βελτίωση τους επόμενους 9 μήνες (182). Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική πορεία των ασθενών και τη μεταβολή των τιμών των **miR-132**, **miR-146a** και **miR-155**. Η μελέτη αφορούσε ασθενείς με πρώιμη αρθρίτιδα που ξεκίνησαν θεραπεία με συμβατικά (μη βιολογικά) DMARDs, κυρίως μεθοτρεξάτη.

Σε μια άλλη μελέτη που μελέτησε ασθενείς που έλαβαν μόνο συμβατικά (μη βιολογικά) DMARDs και κορτικοστεροειδή μελετήθηκε το **miR-125b** (71). Αρχικά, τα επίπεδα του συγκεκριμένου miRNA προ θεραπείας μετρήθηκαν πολύ χαμηλά στο πλάσμα και τα PBCs, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, ενώ όσο χαμηλότερα ήταν, τόσο μεγαλύτερη ήταν η ενεργότητα της νόσου. Έπειτα από 3 μήνες θεραπείας με συμβατικά DMARDs και κορτικοστεροειδή, τα επίπεδά του miR-125b αυξήθηκαν, ανεξαρτήτως της δόσης των φαρμάκων, ενώ όσοι είχαν προ θεραπείας υψηλότερα επίπεδα miR-125b είχαν και περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν ανταπόκριση στην αγωγή μετά από τρεις μήνες θεραπείας.

Εκτός των προαναφερθέντων miRNAs, το **miR-10** έχει βρεθεί ότι αυξάνεται στον ορό των ασθενών με PA που λαμβάνουν μεθοτρεξάτη, σε σχέση με αυτούς που έλαβαν άλλη αγωγή ή placebo, χωρίς όμως να έχει εξεταστεί αν τα επίπεδά του έχουν διαφορά ανάμεσα σε αυτούς που ανταποκρίθηκαν στη μεθοτρεξάτη και σε αυτούς που δεν ανταποκρίθηκαν (201).

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι στα κυκλοφορούντα T λεμφοκύτταρα ασθενών με PA η χρήση σουλφασαλαζίνης ή μεθοτρεξάτης προκαλεί μείωση του **miR-383**, ενώ η χρήση λεφλουνομίδης προκαλεί αύξηση του **miR-760** (95). Παραταύτα, ο αντίκτυπος αυτών των μεταβολών στην ενεργότητα της PA παραμένει άγνωστος.

## **6.2. Αναστολείς του TNFα και Άλλοι Βιολογικοί Παράγοντες**

Ο πιο καλά μελετημένος βιολογικός παράγοντας είναι το adalimumab. Σύμφωνα με τον Krintel και συν σε ασθενείς με πρώιμη, χωρίς θεραπεία, PA, υψηλά επίπεδα **miR-886** και χαμηλά επίπεδα **miR-22** προ θεραπείας προέβλεψαν, με 95% πιθανότητα, καλή ανταπόκριση μετά από δώδεκα μήνες αγωγής με adalimumab (205). Η «καλή ανταπόκριση» ορίστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της EULAR. Δεν συνέβη το ίδιο και με εκείνους που έλαβαν placebo. Αξιοσημείωτο είναι ότι αν τα υψηλά επίπεδα miR-886 συνδυάζονταν με υψηλά επίπεδα miR-22 προ θεραπείας η πιθανότητα καλής ανταπόκρισης μειωνόταν στο 65%. Μια ακόμη μελέτη μελέτησε την ανταπόκριση των ασθενών στη λήψη adalimumab. Ασθενείς που ελάμβαναν adalimumab σε συνδυασμό με μεθοτρεξάτη και είχαν αυξημένα επίπεδα **miR-27a** στο πλάσμα προ θεραπείας είχαν περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν ύφεση στους δώδεκα μήνες αγωγής (206). Μάλιστα, αν τα επίπεδα του miR-27a

μειώνονταν κατά τους τρεις πρώτους μήνες θεραπείας, τότε η πιθανότητα για ύφεση στους δώδεκα μήνες γινόταν πιθανότερη, ενώ το αντίθετο συνέβαινε όταν η συγκέντρωση του miR-27a αυξανόταν περαιτέρω. Δεν βρέθηκε ανάλογη συσχέτιση στους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία μεθοτρεξάτης.

Ορισμένες μελέτες ασχολήθηκαν με την ανταπόκριση και σε άλλους anti-TNF παράγοντες. Η *Castro-Villegas* και συν. (2015) μελετώντας ασθενείς υπό infliximab, etanercept και adalimumab διεπίστωσε αύξηση των επιπέδων των **miR-16**, **miR-23**, **miR125b**, **miR-126**, **miR-146a**, **miR-223** στον ορό των ασθενών που ανταποκρίθηκαν, όταν αυτά μετρήθηκαν πριν και έξι μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας (207). Η αύξηση αυτή ήταν αντιστρόφως ανάλογη της πτώσης της τιμής των φλεγμονωδών κυτταροκινών, του RF και της CRP, αλλά και της βελτίωσης διαφόρων κλινικών παραμέτρων. Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι “responders” παρουσίαζαν άνοδο των τιμών των miR-23 και miR-223, ενώ οι “non-responders” παρουσίαζαν πτώση. Ακόμα, υψηλά επίπεδα miR-23 και miR-223 προ θεραπείας συνδέθηκαν με μειωμένη πιθανότητα ανταπόκρισης. Συνεπώς, οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα δύο προαναφερθέντα miRNAs θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως προγνωστικοί δείκτες ή ως δείκτες ανταπόκρισης στην antiTNF αγωγή.

Σε αντίθεση με την προηγούμενη μελέτη, ο *Curren* και συν. (2016) δεν απέδειξαν συσχέτιση ανάμεσα σε μια πλειάδα εξετασθέντων miRNAs και στην πιθανότητα ανταπόκρισης σε etanercept και adalimumab (208). Αρχικά, βρέθηκαν, προ της έναρξης της θεραπείας, αυξημένο miR-99a και χαμηλό miR-143 στον ορό των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στο adalimumab, ενώ αυξημένα αρχικά επίπεδα miR-23a και miR-197 «προέβλεπαν» ανταπόκριση στο etanercept. Παραταύτα, αυτά τα αποτελέσματα δεν επαληθεύτηκαν σε δεύτερη κοορτή ασθενών που εφαρμόστηκαν, συνεπώς δεν μπορεί εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα.

Η *Bogunia-Kubik* και συν. (2016) μελετώντας το **miR-146a** βρήκαν ότι τα επίπεδά του στον ορό τετραπλασιάζονται μετά από τρεις μήνες θεραπείας με αναστολείς TNF (43), χωρίς, όμως, να συγκρίνει τα επίπεδά του miR-146a μεταξύ «responders» και «non-responders». Να σημειωθεί ότι οι υγιείς μάρτυρες είχαν δωδεκαπλάσια επίπεδα του miR-146a στον ορό σε σχέση με τους ασθενείς με PA προ θεραπείας. Συνεπώς, ακόμα και μετά από τρεις μήνες θεραπείας τα επίπεδα του miR-146a στον

ορό των ασθενών ήταν 3 φορές κάτω από εκείνα των υγιών. Συμπληρωματικά, όταν εξετάστηκε ο πολυμορφισμός rs2910164(G/C) του miR-146a, οι περισσότεροι από τους ασθενείς που παρουσίασαν αύξηση των επιπέδων του miR-146a έφεραν το αλληλίο C (ετεροζυγώτες ή ομοζυγώτες), σε αντίθεση με τους ομόζυγους GG. Ούτε σε αυτές τις ομάδες ασθενών (CC, GC, GG) έγινε σύγκριση μεταξύ «responders» και «non-responders», πιθανώς λόγω του μικρού δείγματος. Συμπερασματικά, δύο μελέτες δείχνουν ότι η θεραπεία με αναστολείς TNF αυξάνει τη συγκέντρωση του miR-146a στο πλάσμα (43, 207), χωρίς να διευκρινίζεται αν αυτή η αύξηση συνοδεύεται και από κλινική ανταπόκριση στην αγωγή.

Σε μια πρόσφατη μελέτη μελετήθηκε η έκφραση του **miR-5196** στον ορό δέκα ασθενών με PA προ και μετά θεραπείας με anti-TNF παράγοντες (etanercept, adalimumab). Αρχικά, τα επίπεδα του miR-5196 στον ορό ήταν αυξημένα σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές, ενώ έξι μήνες μετά, η πτώση του δείκτη DAS28 ήταν ανάλογη της πτώσης του miR-5196 (203). Ενδιαφέρον, επίσης, παρουσιάζει ότι η πτώση του miR-5196 συσχετίστηκε με την ενεργότητα της νόσου καλύτερα από τη CRP, ενώ ακόμα και μετά από 6 μήνες θεραπείας τα επίπεδα του miR-5196 ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς.

Ακόμα, η θεραπεία με βιολογικούς παράγοντες (κυρίως anti-TNF και λιγότερο tocilizumab και abatacept) έδειξε να συνδέεται με αυξημένα επίπεδα **miR-139**, **miR-204**, **miR-214** και **miR-760** στα περιφερικά T λεμφοκύτταρα ασθενών με PA (95). Παραταύτα, από τους ερευνητές δεν γίνεται αναφορά στην κλινική απήχηση αυτής της μεταβολής, δηλαδή αν συσχετίστηκε με ανταπόκριση ή μη στη θεραπεία, αν και οι ασθενείς αυτοί παρουσίαζαν χαμηλούς δείκτες φλεγμονής.

Τέλος, με την ανταπόκριση στη θεραπεία με rituximab ασχολήθηκε μια μελέτη από τη Γαλλία. Σε αυτήν, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι οι ασθενείς που επέδειξαν καλή κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία με rituximab είχαν αυξημένα επίπεδα **miR-125b** στον ορό τους πριν τη θεραπεία (209). Αντίθετα, δεν φάνηκε διαφορά στα επίπεδα του miR-142 στον ορό, ανάλογα με την κλινική απάντηση στο rituximab.

### 6.3. Άλλες Θεραπείες

Ορισμένοι ιατροί στην Ανατολική Ασία χορηγούν σε ασθενείς με RA εκχύλισμα του φυτού *Tripterygium wilfordii* μαζί με την κλασική θεραπεία. Στα ελληνικά μεταφράζεται ως «άμπελος του θεού των κεραυνών» και είναι ένα βότανο που χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή κινεζική ιατρική. Σε μια πρόσφατη εργασία φάνηκε ότι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με *T. Wilfordii* σε συνδυασμό με μεθοτρεξάτη ή λεφλουνομίδη παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα **miR-146a** στον ορό προ θεραπείας, καθώς και μεγαλύτερη πτώση τους μετά από 6 μήνες αγωγής, σε αντίθεση με αυτούς που δεν ανταποκρίθηκαν (210). Επίσης, σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη από την Κίνα, από εκείνους που έλαβαν *Tripterygium wilfordii* οι «responders» παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα **miR-550b-2**, **miR-4797** και χαμηλά επίπεδα **miR-378g** και **miR-6509** στα PBMCs σε σχέση με τους «non-responders» (211).

Μια άλλη ουσία από την κινέζικη ιατρική έχει δοκιμαστεί σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας και ονομάζεται celestrol. Η celestrol βελτίωσε την αρθρίτιδα και μείωσε τα επίπεδα των **miR-22**, **miR-27a**, **miR-96**, **miR-142** και **miR-223**, ενώ αύξησε και τα επίπεδα του **miR-296** στα λεμφοκύτταρα που εδράζονται στους λεμφαδένες (204). Τα miR-22, miR-27a και miR-223 έχει φανεί ότι επηρεάζονται και από άλλες θεραπείες, ενώ περαιτέρω μελέτη χρειάζεται για να διαπιστωθεί αν τα υπόλοιπα miRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες ανταπόκρισης σε αναγνωρισμένες θεραπείες στους ανθρώπους.

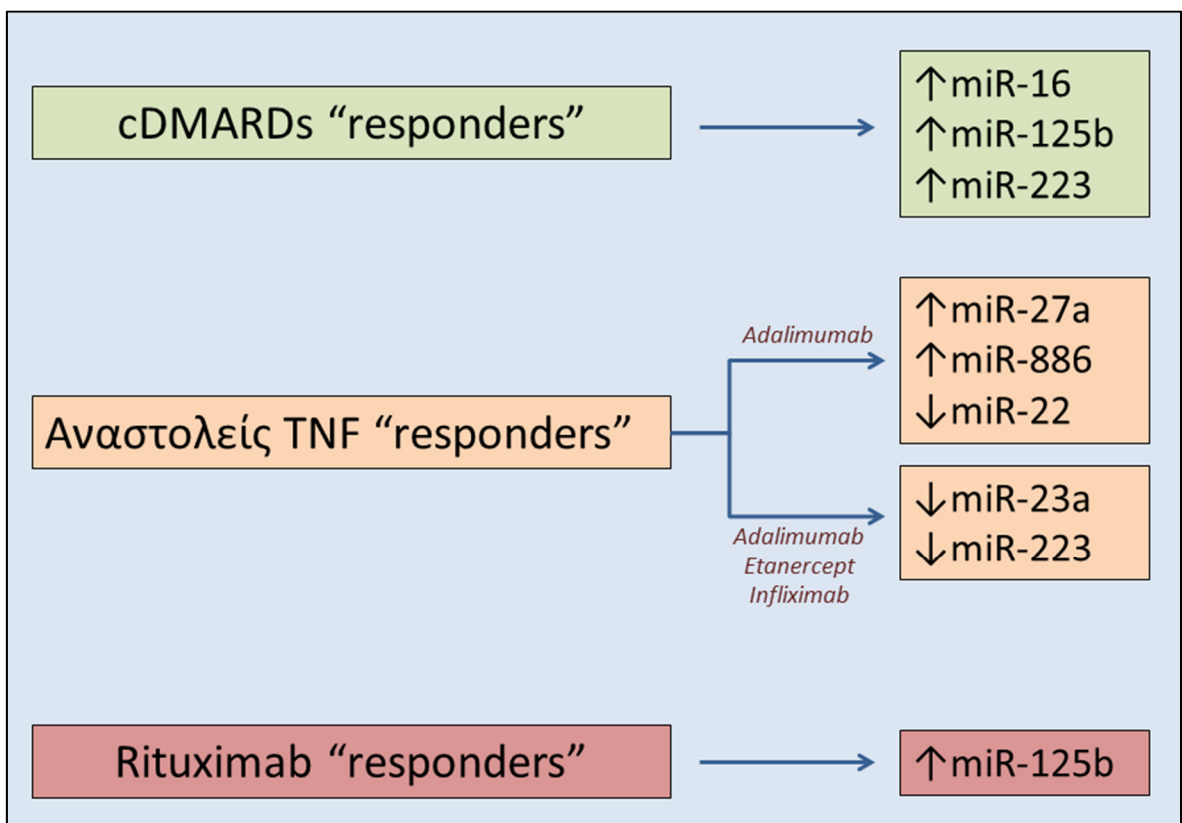
### 6.4. Συμπεράσματα

Τα δεδομένα που να υποστηρίζουν τη χρήση των miRNAs ως δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία είναι, προς το παρόν, λίγα, αλλά ενθαρρυντικά. Πολλές μεταβολές κυκλοφορούντων miRNAs έχουν ανιχνευθεί μετά την έναρξη θεραπείας, αλλά μόνο ορισμένα miRNAs φαίνεται ότι συνδέονται με κλινική απάντηση σε συγκεκριμένα φάρμακα (**Εικόνα 4**).

Όσον αφορά τα συμβατικά DMARDs, τα αυξημένα επίπεδα **miR-16**, **miR-125b** και **miR-223** στον ορό προ της έναρξης θεραπείας συνδέονται με καλύτερη ανταπόκριση στην αγωγή μετά από τρεις μήνες. Επίσης, η αύξηση του miR-16 τους

πρώτους τρεις μήνες θεραπείας οδηγεί σε μεγαλύτερη πτώση της ενεργότητας της νόσου τους επόμενους εννέα μήνες.

Όσον αφορά τα βιολογικά DMARDs, υπάρχουν περισσότερα δεδομένα. Προ της έναρξης adalimumab τα μειωμένα επίπεδα **miR-22** και τα αυξημένα επίπεδα **miR-27a** και **miR-886** στον ορό των ασθενών «προβλέπουν» καλή ανταπόκριση στους δώδεκα μήνες θεραπείας, ενώ η πτώση της συγκέντρωσης του miR-27a τους τρεις πρώτους μήνες αγωγής με adalimumab συνδέεται με μειωμένη ενεργότητα της PA στους δώδεκα μήνες θεραπείας. Αντίθετα, ασθενείς υπό infliximab, etanercept ή adalimumab με υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων **miR-23** και **miR-223** προ της έναρξης της αγωγής παρουσιάζουν μειωμένη ανταπόκριση μετά από έξι μήνες θεραπείας. Τέλος, αυξημένο **miR-125b** στο πλάσμα των ασθενών με PA που θα ξεκινήσουν αγωγή με rituximab συνδέεται με μεγαλύτερο ποσοστό ανταπόκρισης στο φάρμακο τρεις μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας.



**Εικόνα 4.** Η μέτρηση των επιπέδων συγκεκριμένων κυκλοφορούντων miRNAs προ της έναρξης της θεραπείας μπορεί να προβλέψει την ανταπόκριση του ασθενούς στη συγκεκριμένη αγωγή. Στην εικόνα απεικονίζονται ποια επίπεδα (υψηλά ή χαμηλά) miRNAs συνδέθηκαν με καλή ανταπόκριση σε συγκεκριμένα φάρμακα. cDMARDs: conventional Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs. TNF: Tumor Necrosis Factor.

## 7. **microRNAs ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ**

Πληθώρα πειραμάτων, *in vitro* σε ιστούς από ασθενείς με PA και *in vivo* σε πειραματόζωα, έχει δείξει ότι η χορήγηση αναλόγων ή ανταγωνιστών ορισμένων miRNAs μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της PA μέσω διαφόρων μηχανισμών. Παρά τα ενθαρρυντικά ερευνητικά αποτελέσματα, μέχρι στιγμής δεν έχει δοκιμαστεί κάποιο τέτοιο μόριο σε ασθενείς με PA ή υγιείς εθελοντές.

Η πρώτη έρευνα που αφορούσε τη θεραπευτική εφαρμογή των miRNAs στη PA μελέτησε την ανταπόκριση του φλεγμαίνοντα αρθρικού υμένα στη χορήγηση **miR-15a**. Συγκεκριμένα, ο *Nagata* και συν. (2009) χορήγησαν ενδοαρθρικά διπλής έλικας miR-15a σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αυτοάνοσης αρθρίτιδας και διαπίστωσαν χαμηλή έκφραση Bcl-2 και αυξημένη έκφραση κασπάσης 3 (212). Αυτές οι αλλαγές οδήγησαν σε αύξηση της απόπτωσης τοπικά, χωρίς όμως να οδηγούν σε ύφεση της αρθρίτιδας.

Τα τελευταία χρόνια πολλές έρευνες έχουν διερευνήσει τη σχέση της βιταμίνης D με διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα. Έχει υποστηριχθεί ότι η έλλειψή της συνδέεται με υψηλότερη ενεργότητα της PA (213), ενώ μερικές μελέτες αναφέρουν βελτίωση της αρθρίτιδας με τη χορήγηση συμπληρώματος βιταμίνης D (214). Σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο κολλαγονικής αρθρίτιδας (CIA) η χορήγηση 1,25-(OH)<sub>2</sub>VitD<sub>3</sub> σχετίστηκε με χαμηλά επίπεδα **miR-22**, μειωμένο πολ/σμό και αυξημένη απόπτωση των RASFs, καθώς και μειωμένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (215).

Όσον αφορά το **miR-26**, αυτό φαίνεται να διαδραματίζει αντιφλεγμονώδη ρόλο. Σε μια μελέτη, η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση miR-26a σε ποντίκια με αρθρίτιδα μείωσε την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα μακροφάγα, μέσω μείωσης της TLR3 σηματοδότησης, βελτιώνοντας την αρθρίτιδα (216). Επιπρόσθετα, ο *Sun* και συν. (2015) χορηγώντας ανάλογο του miR-26b σε RASFs παρατήρησαν αυξημένη απόπτωση, μειωμένο πολλαπλασιασμό και μειωμένη παραγωγή TNF-α, IL-1β και IL-6 από αυτούς (127).

Η παρεντερική χορήγηση **ανταγωνιστή του miR-34a** σε ποντίκια με CIA είχε ως αποτέλεσμα μείωση του οιδήματος των αρθρώσεων, περιορισμό της οστικής



απώλειας, καθυστέρηση της εμφάνισης των συμπτωμάτων και μείωση της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών (217). Αντίστοιχα, η αναστολή του **miR-106b** μέσω παρεντερικής χορήγησης αναστολέα του σε ποντίκια με αρθρίτιδα μείωσε την κλινική και ιστολογική βαρύτητα της αρθρίτιδας, καθώς και την οστική απώλεια που την συνόδευε (218).

Όπως προαναφέρθηκε και στο κεφάλαιο για τους RASFs, η χορήγηση **miR-124a** σε RASFs οδήγησε σε μειωμένο πολλαπλασιασμό τους και μειωμένη χημειοταξία T-λεμφοκυττάρων μνήμης και NK λεμφοκυττάρων (131). Επιπρόσθετα, βελτίωση της πειραματικής αρθρίτιδας παρατηρήθηκε σε ποντίκια που χορηγήθηκε ενδοαρθρικά miR-124a (132). Η βελτίωση αυτή οφειλόταν σε μειωμένο πολλαπλασιασμό των RASFs, μειωμένη διήθηση λευκών αιμοσφαιρίων στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα, καθώς και μειωμένη απώλεια χόνδρου και οστού. Επίσης, όταν χορηγήθηκε geniposide, μια ουσία που προέρχεται από τη γαρδένια, σε RASFs, φάνηκε να μειώνει τον πολλαπλασιασμό τους, μέσω αύξησης του miR-124a (134). Τέλος, η χορήγηση αζακιτιδίνης, ενός απομεθυλιωτικού παράγοντα που χορηγείται σε μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα ή άλλες νεοπλασίες, οδήγησε σε μειωμένη μεθυλίωση του γονιδίου του miR-124a και αύξηση της παραγωγής του στους RASFs, αλλά και μειωμένη έκκριση TNFα από αυτούς (171).

Σε πειραματικό μοντέλο αυτοάνοσης αρθρίτιδας σε ποντίκια, η χορήγηση πρόδρομων **miR-140** ενδοαρθρικά οδήγησε σε κλινική και ιστολογική βελτίωση της αρθρίτιδας (140). Η βελτίωση αυτή συσχετίστηκε με μειωμένο πολλαπλασιασμό και αυξημένη απόπτωση των RASFs, λιγότερη νεοαγγείωση και μειωμένη έκκριση IL-6.

Μια από τις πρώτες μελέτες που εξέτασε την επίδραση της χορήγησης αναλόγων ή ανταγωνιστών miRNAs ως θεραπευτικό μέσο στη PA χρησιμοποίησε διπλής έλικας **miR-146a**. Σε αυτή φάνηκε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση miR-146a περιόρισε τις οστικές διαβρώσεις σε ποντίκια με αρθρίτιδα, μειώνοντας την οστεοκλαστογένεση (107). Παρά την ευεργετική δράση στον οστικό μεταβολισμό, τα αποτελέσματα της χορήγησης του miR-146a δεν ήταν το ίδιο εντυπωσιακά και στη μείωση της έκκρισης TNFα, IL-1β και IL-6.

Όσον αφορά το **miR-150**, φάνηκε ότι η χορήγησή του σε εξωσώματα *in vitro* μείωσε τη μετανάστευση και τη διήθηση των RASFs (219). Επίσης, *in vivo*, η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση του miR-150 σε ποντίκια με πειραματικό μοντέλο αρθρίτιδας οδήγησε σε κλινική βελτίωση της αρθρίτιδας, περιορίζοντας την υπερπλασία του αρθρικού υμένα και την νεοαγγειογένεση (219).

Η **παεονόλη** (raeonol) που συναντάται σε ορισμένα φυτά θεωρείται ότι έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή κινέζικη ιατρική. Μια μελέτη από την Κίνα έδειξε ότι η συγκεκριμένη ουσία καταστέλλει τη φλεγμονή μέσω δράσης της στους RASFs (151). Συγκεκριμένα, μειώνει τα επίπεδα του **miR-155** στους RASFs και αυξάνει, έτσι, την πρωτεΐνη-στόχο FOXO3. Με αυτόν τον τρόπο, στη συνέχεια, προκαλεί μείωση του πολλαπλασιασμού των RASFs και της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών από αυτούς. Με παρόμοιο τρόπο με αυτόν της παεονόλης φαίνεται ότι δρα και ο μεταγραφικός παράγοντας PU.1 (150). Εκτός αυτού, μακροφάγα που έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση με σίγαση του **miR-155** παρουσιάζουν μειωμένη έκκριση κυτταροκινών και, με βάση αυτά τα αποτελέσματα, οι ερευνητές προτείνουν τη γενετική τροποποίηση του miR-155 ως πιθανό θεραπευτικό μέσο για τη PA (79).

Η βαρύτητα της PA θα μπορούσε ίσως να μειωθεί μέσω **μείωσης** των επιπέδων του **miR-223** στο αρθρικό υγρό. Σε μια μελέτη του *Li* και συν. (2012), η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση σε ποντίκια miRNA συμπληρωματικής αλληλουχίας με το miR-223, οδήγησε σε μείωση της δράσης του και επακόλουθη κλινική βελτίωση της πειραματικής αρθρίτιδας (220). Αυτή η «σίγαση» του miR-223 μείωσε, επίσης, την οστεοκλαστογένεση και τις οστικές διαβρώσεις.

Επιπρόσθετα, η χορήγηση **miR-451** σε RASFs προκάλεσε μείωση του πολλαπλασιασμού τους, αλλά και της έκκρισης TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  και IL-6 (221). Σύμφωνα με τους ερευνητές, αυτές οι δράσεις του miR-451 μεσολαβούνται μέσω μειωμένης ενεργοποίησης του μονοπατιού των p38 MAP-κινασών(221).

Ακόμα, το **miR-573** φαίνεται να βελτιώνει την εικόνα της αρθρίτιδας μέσω διαφόρων μηχανισμών. Η χορήγηση miR-573 σε RASFs μείωσε την παραγωγή TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  και IL-6, την νεοαγγειογένεση και τη διήθηση των RASFs (222). Οι δράσεις του αυτές

πιθανολογείται ότι μεσολαβούνται μέσω στόχευσης του TLR2, του EGFR, της TXNDC5 και άλλων mRNAs-στόχων (222).

Τέλος, ιστολογική και κλινική βελτίωση παρουσίασαν ποντίκια με φλεγμονώδη αρθρίτιδα (CIA) στα οποία εγχύθηκε ενδοφλεβίως ανάλογο του **miR-708** (103). Η δράση του αυτή φάνηκε να διαμεσολαβείται μέσω αναστολής του Wnt μονοπατιού (103).

## 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ο κομβικός ρόλος που διαδραματίζουν οι επιγενετικές μεταβολές στην παθογένεια των αυτοάνοσων νοσημάτων. Το ερώτημα που τίθεται εύλογα είναι αν οι επιγενετικές αλλαγές προηγούνται της εμφάνισης της νόσου ή αν αποτελούν το αποτέλεσμα της. Με τα μέχρι τώρα δεδομένα, φαίνεται ότι ισχύουν και τα δύο (223). Αυτό, κατ' επέκταση, ισχύει και για τις μεταβολές των miRNAs στη PA. Όπως φάνηκε και από τα περασμένα κεφάλαια, πολλά miRNAs εκφράζονται διαφορετικά σε ορισμένα βιολογικά υγρά, ιστούς και κύτταρα στους ασθενείς με PA σε σχέση με τους υγιείς. Οι ερευνητές που ασχολήθηκαν με την έκφραση των miRNAs στους ασθενείς με PA ή σε πειραματικά μοντέλα φλεγμονώδους αρθρίτιδας, μέτρησαν τα επίπεδα διαφόρων miRNAs και τα συνέκριναν με τα αντίστοιχα επίπεδα στους υγιείς, σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ή νόσους του συνδετικού ιστού (55). Εκτός αυτού, πολλοί ερευνητές προκάλεσαν αύξηση των επιπέδων ενός miRNA σε ένα συγκεκριμένο κύτταρο μέσω εξωγενούς χορήγησής του ή, αντίθετα, σίγαση του χορηγώντας ανταγωνιστή του και μελέτησαν την επίδραση που είχε η αντίστοιχη μεταβολή (55).

Καταρχάς, έχουν μελετηθεί πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν για miRNAs και βρέθηκαν να συνδέονται με αυξημένο ή μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης PA ή με διαφορές στην ενεργότητα της νόσου. Επίσης, γονίδια πρωτεϊνών-στόχων συγκεκριμένων miRNAs (π.χ. του IRAK1) μπορεί να παρουσιάζουν πολυμορφισμούς που μεταβάλλουν το σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης PA ενός ατόμου. Τέτοιοι πολυμορφισμοί έχουν μελετηθεί σε πληθυσμούς από διάφορα μέρη του πλανήτη.

Πολλές διαταραχές επιπέδων miRNAs συμβάλλουν στην παθοφυσιολογία της PA. Ένα miRNA μπορεί να έχει, τελικά, προφλεγμονώδη ή αντιφλεγμονώδη ρόλο, ανάλογα με την πρωτεΐνη-στόχο και το συγκεκριμένο κύτταρο στο οποίο μελετάται (55). Το φάσμα των παθοφυσιολογικών διεργασιών που επηρεάζονται από miRNAs είναι ευρύ, ενώ οι συγκεντρώσεις των διαφόρων miRNAs μπορεί να διαφέρουν ακόμα και στον ίδιο ασθενή, αναλόγως το στάδιο της PA (170). Δεν είναι λίγα τα ενδοκυττάρια μονοπάτια που επηρεάζονται από τις μεταβολές των miRNA στους ασθενείς με PA, τα βασικότερα εκ των οποίων είναι εκείνα του NF-κB, του Wnt/β-κατενίνης, των JAK/STAT και των TLRs. Αυξημένα ή μειωμένα επίπεδα αρκετών

miRNAs οδηγούν σε αυξημένο πολλαπλασιασμό και επιβίωση των κυττάρων που εμπλέκονται στη φλεγμονή, υπερέκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών ή μεταλλοπρωτεϊνών, διαταραχή της αναλογίας των υποτύπων των T λεμφοκυττάρων, μεταβολή του οστικού μεταβολισμού, καθώς και σε αυξημένη νεοαγγειογένεση στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα. Επίσης, τα εκκρινόμενα σε εξωκυττάρια κυστίδια miRNAs συμβάλλουν στη διακυτταρική επικοινωνία διαφόρων κυττάρων. Πολλά είναι τα κύτταρα στα οποία ευρίσκονται τέτοιες miRNA μεταβολές: PBMCs, περιφερικά και αρθρικά T- και B-λεμφοκύτταρα, αρθρικά μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, οστεοβλάστες, οστεοκλάστες, χονδροκύτταρα και, κυρίως, οι RASFs, οι οποίοι διεγείρονται να πολλαπλασιαστούν, να διηθήσουν τους γύρω ιστούς και να παράγουν κυτταροκίνες και χυμοκίνες που προσελκύουν κύτταρα του ανοσοποιητικού στις αρθρώσεις (113). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η επιδείνωση και διαιώνιση της συστηματικής φλεγμονής και η υπερτροφία του προσβεβληθέντος αρθρικού υμένα που υπερπλάσσεται και διηθεί τον παρακείμενο χόνδρο και οστόν, οδηγώντας στις γνωστές κλινικές εκδηλώσεις της PA. Επιπρόσθετα, στη PA ορισμένα miRNAs αυξάνονται αντισταθμιστικά, καθώς το ανοσοποιητικό καταβάλλει προσπάθεια χαλιναγώγησης της υπέρμετρης φλεγμονής. Ακόμα, τα γονίδια που κωδικοποιούν για miRNAs αποτελούν και στόχους μεθυλίωσης ή ακετυλίωσης ιστονών που έμμεσα επηρεάζουν τη μεταγραφή τους (170). Τέτοιες μεταβολές έχουν βρεθεί και σε ασθενείς με PA, ιδίως στους RASFs (133). Τελικά, από τη μία τα miRNAs συμβάλλουν σε πολλαπλές πλευρές της παθογένειας της PA, από την άλλη, όμως, η ίδια η φλεγμονή μεταβάλλει την έκφραση των miRNAs σε διάφορα κύτταρα των προσβεβλημένων αρθρώσεων (224).

Οι παρατηρούμενες μεταβολές των miRNA στους ασθενείς με PA έχουν ερευνητική και κλινική αξία. Πρώτον, ανοίγουν δρόμους στη βαθύτερη κατανόηση της παθογένεσης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, καθώς αποκαλύπτουν νέους, προηγουμένως άγνωστους, μοριακούς μηχανισμούς. Δεύτερον, μπορούν να συνεισφέρουν στη διαγνωστική φαρέτρα της PA, συμβάλλοντας στη διάκριση των ασθενών από τους υγιείς. Τρίτον, η μέτρηση συγκεκριμένων miRNAs προ της θεραπείας και η μεταβολή των επιπέδων τους κατά τη διάρκειά της μπορεί να συμβάλλει στις θεραπευτικές αποφάσεις, αποκαλύπτοντας αν ένας ασθενής θα ωφεληθεί τελικά ή όχι από μια συγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή. Με αυτόν τον τρόπο μειώνονται οι αλλαγές της αγωγής που ταλαιπωρούν τους ασθενείς, περιορίζονται οι επιπλοκές της νόσου, καθώς επιταχύνεται ο έλεγχος της

ενεργότητάς της, ενώ εξοικονομούνται και πόροι. Τέλος, η έρευνα γύρω από τα miRNA στη PA διευρύνει τις θεραπευτικές επιλογές, δημιουργώντας νέες δυνατότητες ανάπτυξης στοχευμένων φαρμάκων που να στοχεύουν σε νέα, προηγουμένως άγνωστα, μόρια και κυτταρικά μονοπάτια που εμπλέκονται στη φλεγμονή της PA.

Η θέση των miRNAs στη PA αποδεικνύεται όλο και πιο σημαντική, ενώ το μέλλον αυτού του πεδίου έρευνας δείχνει πολλά υποσχόμενο. Συνεχώς αναδεικνύεται ο ρόλος νέων μορίων miRNA και αποκαλύπτονται όλο και περισσότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ miRNAs, lncRNAs, μεθυλίωσης DNA και άλλων επιγενετικών μηχανισμών που καθορίζουν την πρωτεϊνική έκφραση ενός κυττάρου και, κατ' επέκταση, τη «συμπεριφορά» του. Η ολοένα αυξανόμενη συσσώρευση γνώσης σε αυτόν τον τομέα θα συμβάλει στη βαθύτερη κατανόηση της παθογένεσης της PA, στην έγκαιρη διάγνωσή της, στην ακριβέστερη παρακολούθηση της ενεργότητάς της, στην πρόγνωση της ανταπόκρισης σε συγκεκριμένα φάρμακα και στην ανακάλυψη νέων στοχευμένων θεραπειών.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Berger SL, Kouzarides T, Shiekhhattar R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 2009;23(7):781-3.
2. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature.* 2007;447(7143):396-8.
3. Corvetta A, Della Bitta R, Luchetti MM, Pomponio G. 5-Methylcytosine content of DNA in blood, synovial mononuclear cells and synovial tissue from patients affected by autoimmune rheumatic diseases. *Journal of chromatography.* 1991;566(2):481-91.
4. Richardson BC, Patel DR. Epigenetics in 2013. DNA methylation and miRNA: key roles in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10(2):72-4.
5. Liu Y, Aryee MJ, Padyukov L, Fallin MD, Hesselberg E, Runarsson A, et al. Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nat Biotechnol.* 2013;31(2):142-7.
6. Nile CJ, Read RC, Akil M, Duff GW, Wilson AG. Methylation status of a single CpG site in the IL6 promoter is related to IL6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(9):2686-93.
7. Karouzakis E, Gay RE, Michel BA, Gay S, Neidhart M. DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2009;60(12):3613-22.
8. Karouzakis E, Rengel Y, Jungel A, Kolling C, Gay RE, Michel BA, et al. DNA methylation regulates the expression of CXCL12 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Genes Immun.* 2011;12(8):643-52.
9. Nakano K, Boyle DL, Firestein GS. Regulation of DNA methylation in rheumatoid arthritis synoviocytes. *J Immunol.* 2013;190(3):1297-303.
10. Nakano K, Whitaker JW, Boyle DL, Wang W, Firestein GS. DNA methylome signature in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(1):110-7.
11. Neidhart M, Rethage J, Kuchen S, Kunzler P, Crawl RM, Billingham ME, et al. Retrotransposable L1 elements expressed in rheumatoid arthritis synovial tissue: association with genomic DNA hypomethylation and influence on gene expression. *Arthritis Rheum.* 2000;43(12):2634-47.
12. Araki Y, Tsuzuki Wada T, Aizaki Y, Sato K, Yokota K, Fujimoto K, et al. Histone Methylation and STAT-3 Differentially Regulate Interleukin-6-Induced Matrix Metalloproteinase Gene Activation in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(5):1111-23.
13. Huber LC, Brock M, Hemmatazad H, Giger OT, Moritz F, Trenkmann M, et al. Histone deacetylase/acetylase activity in total synovial tissue derived from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2007;56(4):1087-93.
14. Kawabata T, Nishida K, Takasugi K, Ogawa H, Sada K, Kadota Y, et al. Increased activity and expression of histone deacetylase 1 in relation to tumor necrosis factor-alpha in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(4):R133.
15. Wada TT, Araki Y, Sato K, Aizaki Y, Yokota K, Kim YT, et al. Aberrant histone acetylation contributes to elevated interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;444(4):682-6.

16. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(2):111-22.
17. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005;120(1):15-20.
18. Zeng Y, Yi R, Cullen BR. MicroRNAs and small interfering RNAs can inhibit mRNA expression by similar mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(17):9779-84.
19. Wu H, Zhao M, Yoshimura A, Chang C, Lu Q. Critical Link Between Epigenetics and Transcription Factors in the Induction of Autoimmunity: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;50(3):333-44.
20. Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, et al. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell*. 2006;126(6):1203-17.
21. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016;388(10055):2023-38.
22. Kitas GD, Gabriel SE. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: state of the art and future perspectives. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(1):8-14.
23. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S265-72.
24. Klein K, Gay S. Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(1):76-82.
25. Ospelt C, Gay S, Klein K. Epigenetics in the pathogenesis of RA. *Semin Immunopathol*. 2017;39(4):409-19.
26. Hitchon CA, Chandad F, Ferucci ED, Willemze A, Ioan-Facsinay A, van der Woude D, et al. Antibodies to porphyromonas gingivalis are associated with anticitrullinated protein antibodies in patients with rheumatoid arthritis and their relatives. *J Rheumatol*. 2010;37(6):1105-12.
27. Scher JU, Littman DR, Abramson SB. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(1):35-45.
28. Qin B, Yang M, Fu H, Ma N, Wei T, Tang Q, et al. Body mass index and the risk of rheumatoid arthritis: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:86.
29. Anquetil F, Clavel C, Offer G, Serre G, Sebbag M. IgM and IgA rheumatoid factors purified from rheumatoid arthritis sera boost the Fc receptor- and complement-dependent effector functions of the disease-specific anti-citrullinated protein autoantibodies. *J Immunol*. 2015;194(8):3664-74.
30. Niu Q, Cai B, Huang ZC, Shi YY, Wang LL. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(9):2731-6.
31. Wang W, Shao S, Jiao Z, Guo M, Xu H, Wang S. The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(4):887-93.



32. Sujitha S, Rasool M. MicroRNAs and bioactive compounds on TLR/MAPK signaling in rheumatoid arthritis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2017;473:106-15.
33. Colebatch AN, Edwards CJ, Ostergaard M, van der Heijde D, Balint PV, D'Agostino MA, et al. EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(6):804-14.
34. Smolen JS, Landewe R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):960-77.
35. Yang B, Zhang JL, Shi YY, Li DD, Chen J, Huang ZC, et al. Association study of single nucleotide polymorphisms in pre-miRNA and rheumatoid arthritis in a Han Chinese population. *Mol Biol Rep*. 2011;38(8):4913-9.
36. Yang XK, Li P, Zhang C, Leng RX, Li S, Liu J, et al. Association between IRAK1 rs3027898 and miRNA-499 rs3746444 polymorphisms and rheumatoid arthritis : A case control study and meta-analysis. *Z Rheumatol*. 2017;76(7):622-9.
37. Zhou X, Zhu J, Zhang H, Zhou G, Huang Y, Liu R. Is the microRNA-146a (rs2910164) polymorphism associated with rheumatoid arthritis? Association of microRNA-146a (rs2910164) polymorphism and rheumatoid arthritis could depend on gender. *Joint Bone Spine*. 2015;82(3):166-71.
38. Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Zakeri Z, Atabaki M, Bahari G, Jahantigh M, et al. Association of pre-miRNA-146a rs2910164 and premiRNA-499 rs3746444 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Mol Med Rep*. 2013;7(1):287-91.
39. El-Shal AS, Aly NM, Galil SM, Moustafa MA, Kandel WA. Association of microRNAs genes polymorphisms with rheumatoid arthritis in Egyptian female patients. *Joint Bone Spine*. 2013;80(6):626-31.
40. Toraih EA, Ismail NM, Toraih AA, Hussein MH, Fawzy MS. Precursor miR-499a Variant but not miR-196a2 is Associated with Rheumatoid Arthritis Susceptibility in an Egyptian Population. *Mol Diagn Ther*. 2016;20(3):279-95.
41. Ayeldeen G, Nassar Y, Ahmed H, Shaker O, Gheita T. Possible use of miRNAs-146a and -499 expression and their polymorphisms as diagnostic markers for rheumatoid arthritis. *Mol Cell Biochem*. 2018;449(1-2):145-56.
42. Shaker OG, El Boghdady NA, El Sayed AE. Association of MiRNA-146a, MiRNA-499, IRAK1 and PADI4 Polymorphisms with Rheumatoid Arthritis in Egyptian Population. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(6):2239-49.
43. Bogunia-Kubik K, Wysoczanska B, Piatek D, Iwaszko M, Ciechomska M, Swierkot J. Significance of Polymorphism and Expression of miR-146a and NFkB1 Genetic Variants in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2016;64(Suppl 1):131-6.
44. Aleman-Avila I, Jimenez-Morales M, Beltran-Ramirez O, Barbosa-Cobos RE, Jimenez-Morales S, Sanchez-Munoz 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(54):91876-86.

45. 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):1-6.
46. Lee YH, Bae SC. The miR-146a polymorphism and susceptibility to systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis : a meta-analysis. *Z Rheumatol.* 2015;74(2):153-6.
47. Li K, Tie H, Hu N, Chen H, Yin X, Peng C, et al. Association of two polymorphisms rs2910164 in miRNA-146a and rs3746444 in miRNA-499 with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Hum Immunol.* 2014;75(7):602-8.
48. Song GG, Bae SC, Seo YH, Kim JH, Choi SJ, Ji JD, et al. The association between susceptibility to inflammatory arthritis and miR-146a, miR-499 and IRAK1 polymorphisms. A meta-analysis. *Z Rheumatol.* 2015;74(7):637-45.
49. Ciccacci C, Conigliaro P, Perricone C, Rufini S, Triggianese P, Politi C, et al. Polymorphisms in STAT-4, IL-10, PSORS1C1, PTPN2 and MIR146A genes are associated differently with prognostic factors in Italian patients affected by rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2016;186(2):157-63.
50. Chatzikyriakidou A, Voulgari PV, Georgiou I, Drosos AA. A polymorphism in the 3'-UTR of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK1), a target gene of miR-146a, is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Joint Bone Spine.* 2010;77(5):411-3.
51. Khalifa O, Pers YM, Ferreira R, Senechal A, Jorgensen C, Apparailly F, et al. X-Linked miRNAs Associated with Gender Differences in Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(11).
52. Okada Y, Muramatsu T, Suita N, Kanai M, Kawakami E, Lotchkova V, et al. Significant impact of miRNA-target gene networks on genetics of human complex traits. *Sci Rep.* 2016;6:22223.
53. Lenert A, Fardo DW. Detecting novel micro RNAs in rheumatoid arthritis with gene-based association testing. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35(4):586-92.
54. Murata K, Yoshitomi H, Tanida S, Ishikawa M, Nishitani K, Ito H, et al. Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R86.
55. Salehi E, Eftekhari R, Oraei M, Gharib A, Bidad K. MicroRNAs in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2015;34(4):615-28.
56. Tavasolian F, Abdollahi E, Rezaei R, Momtazi-Borojeni AA, Henrotin Y, Sahebkar A. Altered Expression of MicroRNAs in Rheumatoid Arthritis. *J Cell Biochem.* 2018;119(1):478-87.
57. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004;50(2):380-6.
58. Nam JL, Hunt L, Hensor EM, Emery P. Enriching case selection for imminent RA: the use of anti-CCP antibodies in individuals with new non-specific musculoskeletal symptoms - a cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(8):1452-6.
59. Rakieh C, Nam JL, Hunt L, Hensor EM, Das S, Bissell LA, et al. Predicting the development of clinical arthritis in anti-CCP positive individuals with non-specific

musculoskeletal symptoms: a prospective observational cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(9):1659-66.

60. van de Stadt LA, Witte BI, Bos WH, van Schaardenburg D. A prediction rule for the development of arthritis in seropositive arthralgia patients. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(12):1920-6.

61. Ouboussad L, Hunt L, Hensor EMA, Nam JL, Barnes NA, Emery P, et al. Profiling microRNAs in individuals at risk of progression to rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2017;19(1):288.

62. Anaparti V, Smolik I, Meng X, Spicer V, Mookherjee N, El-Gabalawy H. Whole blood microRNA expression pattern differentiates patients with rheumatoid arthritis, their seropositive first-degree relatives, and healthy unrelated control subjects. *Arthritis Res Ther.* 2017;19(1):249.

63. Ouhara K, Savitri IJ, Fujita T, Kittaka M, Kajiya M, Iwata T, et al. miR-584 expressed in human gingival epithelial cells is induced by *Porphyromonas gingivalis* stimulation and regulates interleukin-8 production via lactoferrin receptor. *J Periodontol.* 2014;85(6):e198-204.

64. Lai NS, Yu HC, Yu CL, Koo M, Huang HB, Lu MC. Anti-citrullinated protein antibodies suppress let-7a expression in monocytes from patients with rheumatoid arthritis and facilitate the inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Immunobiology.* 2015;220(12):1351-8.

65. Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell.* 2011;146(3):353-8.

66. Jiang H, Ma R, Zou S, Wang Y, Li Z, Li W. Reconstruction and analysis of the lncRNA-miRNA-mRNA network based on competitive endogenous RNA reveal functional lncRNAs in rheumatoid arthritis. *Mol Biosyst.* 2017;13(6):1182-92.

67. Thery C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(8):581-93.

68. Wang L, Wang C, Jia X, Yu J. Circulating Exosomal miR-17 Inhibits the Induction of Regulatory T Cells via Suppressing TGFBR II Expression in Rheumatoid Arthritis. *Cell Physiol Biochem.* 2018;50(5):1754-63.

69. Greisen SR, Yan Y, Hansen AS, Venø MT, Nyengaard JR, Moestrup SK, et al. Extracellular Vesicles Transfer the Receptor Programmed Death-1 in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 2017;8:851.

70. Dong L, Wang X, Tan J, Li H, Qian W, Chen J, et al. Decreased expression of microRNA-21 correlates with the imbalance of Th17 and Treg cells in patients with rheumatoid arthritis. *J Cell Mol Med.* 2014;18(11):2213-24.

71. Hruskova V, Jandova R, Vernerova L, Mann H, Pecha O, Prajzlerova K, et al. MicroRNA-125b: association with disease activity and the treatment response of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2016;18(1):124.

72. Chen Y, Wang X, Yang M, Ruan W, Wei W, Gu D, et al. miR-145-5p Increases Osteoclast Numbers In Vitro and Aggravates Bone Erosion in Collagen-Induced Arthritis by Targeting Osteoprotegerin. *Med Sci Monit.* 2018;24:5292-300.

73. Pauley KM, Satoh M, Chan AL, Bubb MR, Reeves WH, Chan EK. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(4):R101.
74. Abou-Zeid A, Saad M, Soliman E. MicroRNA 146a expression in rheumatoid arthritis: association with tumor necrosis factor-alpha and disease activity. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011;15(11):807-12.
75. Chung IM, Ketharnathan S, Thiruvengadam M, Rajakumar G. Rheumatoid Arthritis: The Stride from Research to Clinical Practice. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6).
76. Kurowska-Stolarska M, Alivernini S, Ballantine LE, Asquith DL, Millar NL, Gilchrist DS, et al. MicroRNA-155 as a proinflammatory regulator in clinical and experimental arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(27):11193-8.
77. Li X, Tian F, Wang F. Rheumatoid arthritis-associated microRNA-155 targets SOCS1 and upregulates TNF-alpha and IL-1beta in PBMCs. *Int J Mol Sci.* 2013;14(12):23910-21.
78. Long L, Yu P, Liu Y, Wang S, Li R, Shi J, et al. Upregulated microRNA-155 expression in peripheral blood mononuclear cells and fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:296139.
79. Jing W, Zhang X, Sun W, Hou X, Yao Z, Zhu Y. CRISPR/CAS9-Mediated Genome Editing of miRNA-155 Inhibits Proinflammatory Cytokine Production by RAW264.7 Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:326042.
80. Bluml S, Bonelli M, Niederreiter B, Puchner A, Mayr G, Hayer S, et al. Essential role of microRNA-155 in the pathogenesis of autoimmune arthritis in mice. *Arthritis Rheum.* 2011;63(5):1281-8.
81. Rajasekhar M, Olsson AM, Steel KJ, Georgouli M, Ranasinghe U, Brender Read C, et al. MicroRNA-155 contributes to enhanced resistance to apoptosis in monocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2017;79:53-62.
82. Mookherjee N, El-Gabalawy HS. High degree of correlation between whole blood and PBMC expression levels of miR-155 and miR-146a in healthy controls and rheumatoid arthritis patients. *J Immunol Methods.* 2013;400-401:106-10.
83. Huang Q, Chen SS, Li J, Tao SS, Wang M, Leng RX, et al. miR-210 expression in PBMCs from patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ir J Med Sci.* 2018;187(1):243-9.
84. Abo EIAtta AS, Ali YBM, Bassyouni IH, Talaat RM. Upregulation of miR-221/222 expression in rheumatoid arthritis (RA) patients: correlation with disease activity. *Clin Exp Med.* 2018.
85. Tang X, Yin K, Zhu H, Tian J, Shen D, Yi L, et al. Correlation Between the Expression of MicroRNA-301a-3p and the Proportion of Th17 Cells in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Inflammation.* 2016;39(2):759-67.
86. Wang Y, Zheng F, Gao G, Yan S, Zhang L, Wang L, et al. MiR-548a-3p regulates inflammatory response via TLR4/NF-kappaB signaling pathway in rheumatoid arthritis. *J Cell Biochem.* 2018.

87. Andersson KM, Turkkila M, Erlandsson MC, Bossios A, Silfversward ST, Hu D, et al. Survivin controls biogenesis of microRNA in smokers: A link to pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017;1863(3):663-73.
88. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2205-19.
89. Jin S, Chen H, Li Y, Zhong H, Sun W, Wang J, et al. Maresin 1 improves the Treg/Th17 imbalance in rheumatoid arthritis through miR-21. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(11):1644-52.
90. van der Geest KS, Smigielska-Czepiel K, Park JA, Abdulahad WH, Kim HW, Kroesen BJ, et al. SF Treg cells transcribing high levels of Bcl-2 and microRNA-21 demonstrate limited apoptosis in RA. *Rheumatology (Oxford).* 2015;54(5):950-8.
91. Guggino G, Orlando V, Saieva L, Ruscitti P, Cipriani P, La Manna MP, et al. Downregulation of miRNA17-92 cluster marks Vgamma9Vdelta2 T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):236.
92. Li J, Wan Y, Guo Q, Zou L, Zhang J, Fang Y, et al. Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R81.
93. Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, Okuhara A, Izumi B, Deie M, et al. MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:209.
94. Zhou Q, Haupt S, Kreuzer JT, Hammitzsch A, Proft F, Neumann C, et al. Decreased expression of miR-146a and miR-155 contributes to an abnormal Treg phenotype in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(6):1265-74.
95. Lai NS, Yu HC, Tung CH, Huang KY, Huang HB, Lu MC. The role of aberrant expression of T cell miRNAs affected by TNF-alpha in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2017;19(1):261.
96. Fulci V, Scappucci G, Sebastiani GD, Giannitti C, Franceschini D, Meloni F, et al. miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis. *Hum Immunol.* 2010;71(2):206-11.
97. Lu MC, Yu CL, Chen HC, Yu HC, Huang HB, Lai NS. Increased miR-223 expression in T cells from patients with rheumatoid arthritis leads to decreased insulin-like growth factor-1-mediated interleukin-10 production. *Clin Exp Immunol.* 2014;177(3):641-51.
98. Smigielska-Czepiel K, van den Berg A, Jellema P, van der Lei RJ, Bijzet J, Kluiver J, et al. Comprehensive analysis of miRNA expression in T-cell subsets of rheumatoid arthritis patients reveals defined signatures of naive and memory Tregs. *Genes Immun.* 2014;15(2):115-25.
99. Kurowska-Stolarska M, Alivernini S, Melchor EG, Elmesmari A, Tulusso B, Tange C, et al. MicroRNA-34a dependent regulation of AXL controls the activation of dendritic cells in inflammatory arthritis. *Nat Commun.* 2017;8:15877.
100. Pan F, Xiang H, Yan J, Hong L, Zhang L, Liu Y, et al. Dendritic Cells from Rheumatoid Arthritis Patient Peripheral Blood Induce Th17 Cell Differentiation via miR-363/Integrin alpha/TGF-beta Axis. *Scand J Immunol.* 2017;85(6):441-9.

101. Shi DL, Shi GR, Xie J, Du XZ, Yang H. MicroRNA-27a Inhibits Cell Migration and Invasion of Fibroblast-Like Synoviocytes by Targeting Follistatin-Like Protein 1 in Rheumatoid Arthritis. *Mol Cells*. 2016;39(8):611-8.
102. Xu K, Xu P, Yao JF, Zhang YG, Hou WK, Lu SM. Reduced apoptosis correlates with enhanced autophagy in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *Inflamm Res*. 2013;62(2):229-37.
103. Wu J, Fan W, Ma L, Geng X. miR-708-5p promotes fibroblast-like synoviocytes' cell apoptosis and ameliorates rheumatoid arthritis by the inhibition of Wnt3a/beta-catenin pathway. *Drug Des Devel Ther*. 2018;12:3439-47.
104. Su LC, Huang AF, Jia H, Liu Y, Xu WD. Role of microRNA-155 in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017;20(11):1631-7.
105. Kim SJ, Chen Z, Essani AB, Elshabrawy HA, Volin MV, Volkov S, et al. Identification of a Novel Toll-like Receptor 7 Endogenous Ligand in Rheumatoid Arthritis Synovial Fluid That Can Provoke Arthritic Joint Inflammation. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(5):1099-110.
106. Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum*. 2008;58(5):1284-92.
107. Nakasa T, Shibuya H, Nagata Y, Niimoto T, Ochi M. The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011;63(6):1582-90.
108. Ogando J, Tardaguila M, Diaz-Alderete A, Usategui A, Miranda-Ramos V, Martinez-Herrera DJ, et al. Notch-regulated miR-223 targets the aryl hydrocarbon receptor pathway and increases cytokine production in macrophages from rheumatoid arthritis patients. *Sci Rep*. 2016;6:20223.
109. Shibuya H, Nakasa T, Adachi N, Nagata Y, Ishikawa M, Deie M, et al. Overexpression of microRNA-223 in rheumatoid arthritis synovium controls osteoclast differentiation. *Mod Rheumatol*. 2013;23(4):674-85.
110. Doody KM, Bottini N, Firestein GS. Epigenetic alterations in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Epigenomics*. 2017;9(4):479-92.
111. Karouzakis E, Gay RE, Gay S, Neidhart M. Epigenetic control in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Nat Rev Rheumatol*. 2009;5(5):266-72.
112. Araki Y, Mimura T. Matrix Metalloproteinase Gene Activation Resulting from Disordred Epigenetic Mechanisms in Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(5).
113. Baxter D, McInnes IB, Kurowska-Stolarska M. Novel regulatory mechanisms in inflammatory arthritis: a role for microRNA. *Immunol Cell Biol*. 2012;90(3):288-92.
114. Turner JD, Filer A. The role of the synovial fibroblast in rheumatoid arthritis pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(2):175-82.
115. Hussain N, Zhu W, Jiang C, Xu J, Geng M, Wu X, et al. Down-regulation of miR-10a-5p promotes proliferation and restricts apoptosis via targeting T-box transcription factor 5 in inflamed synoviocytes. *Biosci Rep*. 2018;38(2).

116. Hong W, Zhang P, Wang X, Tu J, Wei W. The Effects of MicroRNAs on Key Signalling Pathways and Epigenetic Modification in Fibroblast-Like Synoviocytes of Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:9013124.
117. Mu N, Gu J, Huang T, Zhang C, Shu Z, Li M, et al. A novel NF-kappaB/YY1/microRNA-10a regulatory circuit in fibroblast-like synoviocytes regulates inflammation in rheumatoid arthritis. *Sci Rep.* 2016;6:20059.
118. Akhtar N, Singh AK, Ahmed S. MicroRNA-17 Suppresses TNF-alpha Signaling by Interfering with TRAF2 and cIAP2 Association in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *J Immunol.* 2016;197(6):2219-28.
119. Trenkmann M, Brock M, Gay RE, Michel BA, Gay S, Huber LC. Tumor necrosis factor alpha-induced microRNA-18a activates rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through a feedback loop in NF-kappaB signaling. *Arthritis Rheum.* 2013;65(4):916-27.
120. Philippe L, Alsaleh G, Suffert G, Meyer A, Georgel P, Sibilia J, et al. TLR2 expression is regulated by microRNA miR-19 in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol.* 2012;188(1):454-61.
121. Li Z, Cai J, Cao X. MiR-19 suppresses fibroblast-like synoviocytes cytokine release by targeting toll like receptor 2 in rheumatoid arthritis. *Am J Transl Res.* 2016;8(12):5512-8.
122. Philippe L, Alsaleh G, Pichot A, Ostermann E, Zuber G, Frisch B, et al. MiR-20a regulates ASK1 expression and TLR4-dependent cytokine release in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(6):1071-9.
123. Li XF, Shen WW, Sun YY, Li WX, Sun ZH, Liu YH, et al. MicroRNA-20a negatively regulates expression of NLRP3-inflammasome by targeting TXNIP in adjuvant-induced arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Joint Bone Spine.* 2016;83(6):695-700.
124. Chen Y, Xian PF, Yang L, Wang SX. MicroRNA-21 Promotes Proliferation of Fibroblast-Like Synoviocytes through Mediation of NF-kappaB Nuclear Translocation in a Rat Model of Collagen-Induced Rheumatoid Arthritis. *Biomed Res Int.* 2016;2016:9279078.
125. Lin J, Huo R, Xiao L, Zhu X, Xie J, Sun S, et al. A novel p53/microRNA-22/Cyr61 axis in synovial cells regulates inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(1):49-59.
126. Zhu S, Pan W, Song X, Liu Y, Shao X, Tang Y, et al. The microRNA miR-23b suppresses IL-17-associated autoimmune inflammation by targeting TAB2, TAB3 and IKK-alpha. *Nat Med.* 2012;18(7):1077-86.
127. Sun J, Yan P, Chen Y, Chen Y, Yang J, Xu G, et al. MicroRNA-26b inhibits cell proliferation and cytokine secretion in human RASF cells via the Wnt/GSK-3beta/beta-catenin pathway. *Diagn Pathol.* 2015;10:72.
128. Liu J, Fei D, Xing J, Du J. MicroRNA-29a inhibits proliferation and induces apoptosis in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by repressing STAT3. *Biomed Pharmacother.* 2017;96:173-81.
129. Gaur N, Karouzakis E, Gluck S, Bagdonas E, Jungel A, Michel BA, et al. MicroRNAs interfere with DNA methylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *RMD Open.* 2016;2(2):e000299.

130. Alsaleh G, Francois A, Philippe L, Gong YZ, Bahram S, Cetin S, et al. MiR-30a-3p negatively regulates BAFF synthesis in systemic sclerosis and rheumatoid arthritis fibroblasts. *PLoS One*. 2014;9(10):e111266.
131. Kawano S, Nakamachi Y. miR-124a as a key regulator of proliferation and MCP-1 secretion in synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70 Suppl 1:i88-91.
132. Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, Nishimura K, Sakai Y, Chin T, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009;60(5):1294-304.
133. de la Rica L, Urquiza JM, Gomez-Cabrero D, Islam AB, Lopez-Bigas N, Tegner J, et al. Identification of novel markers in rheumatoid arthritis through integrated analysis of DNA methylation and microRNA expression. *J Autoimmun*. 2013;41:6-16.
134. Wang Y, Dai L, Wu H, Zhang ZR, Wang WY, Fu J, et al. Novel anti-inflammatory target of geniposide: Inhibiting Itgbeta1/Ras-Erk1/2 signal pathway via the miRNA-124a in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Int Immunopharmacol*. 2018;65:284-94.
135. Zhang B, Wang LS, Zhou YH. Elevated microRNA-125b promotes inflammation in rheumatoid arthritis by activation of NF-kappaB pathway. *Biomed Pharmacother*. 2017;93:1151-7.
136. Gao J, Zhou XL, Kong RN, Ji LM, He LL, Zhao DB. microRNA-126 targeting PIK3R2 promotes rheumatoid arthritis synovial fibroblasts proliferation and resistance to apoptosis by regulating PI3K/AKT pathway. *Exp Mol Pathol*. 2016;100(1):192-8.
137. Qu Y, Wu J, Deng JX, Zhang YP, Liang WY, Jiang ZL, et al. MicroRNA-126 affects rheumatoid arthritis synovial fibroblast proliferation and apoptosis by targeting PIK3R2 and regulating PI3K-AKT signal pathway. *Oncotarget*. 2016;7(45):74217-26.
138. Gao J, Kong R, Zhou X, Ji L, Zhang J, Zhao D. MiRNA-126 expression inhibits IL-23R mediated TNF-alpha or IFN-gamma production in fibroblast-like synoviocytes in a mice model of collagen-induced rheumatoid arthritis. *Apoptosis*. 2018;23(11-12):607-15.
139. Du J, Zhang F, Guo J. miR137 decreases proliferation, migration and invasion in rheumatoid arthritis fibroblastlike synoviocytes. *Mol Med Rep*. 2018;17(2):3312-7.
140. Peng JS, Chen SY, Wu CL, Chong HE, Ding YC, Shiau AL, et al. Amelioration of Experimental Autoimmune Arthritis Through Targeting of Synovial Fibroblasts by Intraarticular Delivery of MicroRNAs 140-3p and 140-5p. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(2):370-81.
141. Yang Z, Wang J, Pan Z, Zhang Y. miR-143-3p regulates cell proliferation and apoptosis by targeting IGF1R and IGFBP5 and regulating the Ras/p38 MAPK signaling pathway in rheumatoid arthritis. *Exp Ther Med*. 2018;15(4):3781-90.
142. Hong BK, You S, Yoo SA, Park D, Hwang D, Cho CS, et al. MicroRNA-143 and -145 modulate the phenotype of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *Exp Mol Med*. 2017;49(8):e363.
143. Pandis I, Ospelt C, Karagianni N, Denis MC, Reczko M, Camps C, et al. Identification of microRNA-221/222 and microRNA-323-3p association with rheumatoid arthritis via predictions using the human tumour necrosis factor transgenic mouse model. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(10):1716-23.



144. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(4):1001-9.
145. Miao CG, Yang YY, He X, Li XF, Huang C, Huang Y, et al. Wnt signaling pathway in rheumatoid arthritis, with special emphasis on the different roles in synovial inflammation and bone remodeling. *Cell Signal.* 2013;25(10):2069-78.
146. Miao CG, Yang YY, He X, Huang C, Huang Y, Qin D, et al. MicroRNA-152 modulates the canonical Wnt pathway activation by targeting DNA methyltransferase 1 in arthritic rat model. *Biochimie.* 2014;106:149-56.
147. Miao CG, Qin D, Du CL, Ye H, Shi WJ, Xiong YY, et al. DNMT1 activates the canonical Wnt signaling in rheumatoid arthritis model rats via a crucial functional crosstalk between miR-152 and the DNMT1, MeCP2. *Int Immunopharmacol.* 2015;28(1):344-53.
148. Guo J, Du J, Fei D, Xing J, Liu J, Lu H. miR152 inhibits rheumatoid arthritis synovial fibroblast proliferation and induces apoptosis by targeting ADAM10. *Int J Mol Med.* 2018;42(1):643-50.
149. Migita K, Iwanaga N, Izumi Y, Kawahara C, Kumagai K, Nakamura T, et al. TNF-alpha-induced miR-155 regulates IL-6 signaling in rheumatoid synovial fibroblasts. *BMC Res Notes.* 2017;10(1):403.
150. Xie Z, Qu Y, Shen P, Wang B, Wei K, Du B. PU.1 attenuates TNFalpha-induced proliferation and cytokine release of rheumatoid arthritis fibroblastlike synoviocytes by regulating miR155 activity. *Mol Med Rep.* 2018;17(6):8349-56.
151. Liu N, Feng X, Wang W, Zhao X, Li X. Paeonol protects against TNF-alpha-induced proliferation and cytokine release of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by upregulating FOXO3 through inhibition of miR-155 expression. *Inflamm Res.* 2017;66(7):603-10.
152. Ruedel A, Dietrich P, Schubert T, Hofmeister S, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Expression and function of microRNA-188-5p in activated rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(5):4953-62.
153. Li S, Jin Z, Lu X. MicroRNA-192 suppresses cell proliferation and induces apoptosis in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by downregulating caveolin 1. *Mol Cell Biochem.* 2017;432(1-2):123-30.
154. Wangyang Y, Yi L, Wang T, Feng Y, Liu G, Li D, et al. MiR-199a-3p inhibits proliferation and induces apoptosis in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via suppressing retinoblastoma 1. *Biosci Rep.* 2018;38(6).
155. Stanczyk J, Ospelt C, Karouzakis E, Filer A, Raza K, Kolling C, et al. Altered expression of microRNA-203 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and its role in fibroblast activation. *Arthritis Rheum.* 2011;63(2):373-81.
156. Maeda Y, Farina NH, Matzelle MM, Fanning PJ, Lian JB, Gravallesse EM. Synovium-Derived MicroRNAs Regulate Bone Pathways in Rheumatoid Arthritis. *J Bone Miner Res.* 2017;32(3):461-72.
157. Liu Y, Zhang XL, Li XF, Tang YC, Zhao X. miR-212-3p reduced proliferation, and promoted apoptosis of fibroblast-like synoviocytes via down-regulating SOX5 in rheumatoid arthritis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(2):461-71.

158. Iwamoto N, Fukui S, Takatani A, Shimizu T, Umeda M, Nishino A, et al. Osteogenic differentiation of fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis is induced by microRNA-218 through a ROBO/Slit pathway. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):189.
159. Garofalo M, Quintavalle C, Romano G, Croce CM, Condorelli G. miR221/222 in cancer: their role in tumor progression and response to therapy. *Curr Mol Med.* 2012;12(1):27-33.
160. Yang S, Yang Y. Downregulation of microRNA221 decreases migration and invasion in fibroblastlike synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Mol Med Rep.* 2015;12(2):2395-401.
161. Moriya N, Shibasaki S, Karasaki M, Iwasaki T. The Impact of MicroRNA-223-3p on IL-17 Receptor D Expression in Synovial Cells. *PLoS One.* 2017;12(1):e0169702.
162. Guo T, Ding H, Jiang H, Bao N, Zhou L, Zhao J. miR-338-5p Regulates the Viability, Proliferation, Apoptosis and Migration of Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synoviocytes by Targeting NFAT5. *Cell Physiol Biochem.* 2018;49(3):899-910.
163. Alsaleh G, Suffert G, Semaan N, Juncker T, Frenzel L, Gottenberg JE, et al. Bruton's tyrosine kinase is involved in miR-346-related regulation of IL-18 release by lipopolysaccharide-activated rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol.* 2009;182(8):5088-97.
164. Semaan N, Frenzel L, Alsaleh G, Suffert G, Gottenberg JE, Sibilia J, et al. miR-346 controls release of TNF-alpha protein and stability of its mRNA in rheumatoid arthritis via tristetraprolin stabilization. *PLoS One.* 2011;6(5):e19827.
165. Miao CG, Shi WJ, Xiong YY, Yu H, Zhang XL, Qin MS, et al. miR-375 regulates the canonical Wnt pathway through FZD8 silencing in arthritis synovial fibroblasts. *Immunol Lett.* 2015;164(1):1-10.
166. Wang X, Si X, Sun J, Yue L, Wang J, Yu Z. miR-522 Modulated the Expression of Proinflammatory Cytokines and Matrix Metalloproteinases Partly via Targeting Suppressor of Cytokine Signaling 3 in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *DNA Cell Biol.* 2018;37(4):405-15.
167. Liu Y, Qian K, Li C, Ma Y, Chen X. Roles of microRNA-539 and osteopontin in rheumatoid arthritis. *Exp Ther Med.* 2018;15(3):2681-7.
168. Xu X, Chen H, Zhang Q, Xu J, Shi Q, Wang M. MiR-650 inhibits proliferation, migration and invasion of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by targeting AKT2. *Biomed Pharmacother.* 2017;88:535-41.
169. Miao CG, Shi WJ, Xiong YY, Yu H, Zhang XL, Qin MS, et al. MicroRNA-663 activates the canonical Wnt signaling through the adenomatous polyposis coli suppression. *Immunol Lett.* 2015;166(1):45-54.
170. Miao CG, Yang YY, He X, Xu T, Huang C, Huang Y, et al. New advances of microRNAs in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, with a focus on the crosstalk between DNA methylation and the microRNA machinery. *Cell Signal.* 2013;25(5):1118-25.
171. Zhou Q, Long L, Zhou T, Tian J, Zhou B. Demethylation of MicroRNA-124a Genes Attenuated Proliferation of Rheumatoid Arthritis Derived Fibroblast-Like Synoviocytes and Synthesis of Tumor Necrosis Factor-alpha. *PLoS One.* 2016;11(11):e0164207.

172. Niederer F, Trenkmann M, Ospelt C, Karouzakis E, Neidhart M, Stanczyk J, et al. Down-regulation of microRNA-34a\* in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promotes apoptosis resistance. *Arthritis and rheumatism*. 2012;64(6):1771-9.
173. Alsaleh G, Nehmar R, Bluml S, Schleiss C, Ostermann E, Dillenseger JP, et al. Reduced DICER1 Expression Bestows Rheumatoid Arthritis Synoviocytes Proinflammatory Properties and Resistance to Apoptotic Stimuli. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(8):1839-48.
174. Li B, Li N, Zhang L, Li K, Xie Y, Xue M, et al. Hsa\_circ\_0001859 Regulates ATF2 Expression by Functioning as an MiR-204/211 Sponge in Human Rheumatoid Arthritis. *Journal of immunology research*. 2018;2018:9412387.
175. Mo BY, Guo XH, Yang MR, Liu F, Bi X, Liu Y, et al. Long Non-Coding RNA GAPLINC Promotes Tumor-Like Biologic Behaviors of Fibroblast-Like Synoviocytes as MicroRNA Sponging in Rheumatoid Arthritis Patients. *Front Immunol*. 2018;9:702.
176. Takamura Y, Aoki W, Satomura A, Shibasaki S, Ueda M. Small RNAs detected in exosomes derived from the MH7A synovial fibroblast cell line with TNF-alpha stimulation. *PLoS One*. 2018;13(8):e0201851.
177. Li J, Ohliger J, Pei M. Significance of epigenetic landscape in cartilage regeneration from the cartilage development and pathology perspective. *Stem Cells Dev*. 2014;23(11):1178-94.
178. Hu J, Zhai C, Hu J, Li Z, Fei H, Wang Z, et al. MiR-23a inhibited IL-17-mediated proinflammatory mediators expression via targeting IKKalpha in articular chondrocytes. *Int Immunopharmacol*. 2017;43:1-6.
179. Tsai CH, Liu SC, Wang YH, Su CM, Huang CC, Hsu CJ, et al. Osteopontin inhibition of miR-129-3p enhances IL-17 expression and monocyte migration in rheumatoid arthritis. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2017;1861(2):15-22.
180. Chen YJ, Chang WA, Hsu YL, Chen CH, Kuo PL. Deduction of Novel Genes Potentially Involved in Osteoblasts of Rheumatoid Arthritis Using Next-Generation Sequencing and Bioinformatic Approaches. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11).
181. Sabeh F, Fox D, Weiss SJ. Membrane-type I matrix metalloproteinase-dependent regulation of rheumatoid arthritis synoviocyte function. *J Immunol*. 2010;184(11):6396-406.
182. Filkova M, Aradi B, Senolt L, Ospelt C, Vettori S, Mann H, et al. Association of circulating miR-223 and miR-16 with disease activity in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(10):1898-904.
183. Dunaeva M, Blom J, Thurlings R, Pruijn GJM. Circulating serum miR-223-3p and miR-16-5p as possible biomarkers of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2018;193(3):376-85.
184. Kriegsmann M, Randau TM, Gravius S, Lisenko K, Altmann C, Arens N, et al. Expression of miR-146a, miR-155, and miR-223 in formalin-fixed paraffin-embedded synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Virchows Arch*. 2016;469(1):93-100.
185. Tyack PL, Calambokidis J, Friedlaender A, Goldbogen J, Southall B. Formal Comment on Schorr GS, Falcone EA, Moretti DJ, Andrews RD (2014) First Long-Term Behavioral Records from Cuvier's Beaked Whales (*Ziphius cavirostris*) Reveal Record-Breaking Dives. *PLoS ONE* 9(3): e92633. doi:10.1371/journal.pone.0092633. *PLoS One*. 2015;10(12):e0142287.

186. Seoane IV, Martinez C, Garcia-Vicuna R, Ortiz AM, Juarranz Y, Talayero VC, et al. Vasoactive intestinal peptide gene polymorphisms, associated with its serum levels, predict treatment requirements in early rheumatoid arthritis. *Sci Rep*. 2018;8(1):2035.
187. Murata K, Furu M, Yoshitomi H, Ishikawa M, Shibuya H, Hashimoto M, et al. Comprehensive microRNA analysis identifies miR-24 and miR-125a-5p as plasma biomarkers for rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2013;8(7):e69118.
188. Abdul-Maksoud RS, Sediq AM, Kattaia A, Elsayed W, Ezzeldin N, Abdel Galil SM, et al. Serum miR-210 and miR-155 expression levels as novel biomarkers for rheumatoid arthritis diagnosis. *Br J Biomed Sci*. 2017;74(4):209-13.
189. Fernandez-Ruiz JC, Ramos-Remus C, Sanchez-Corona J, Castillo-Ortiz JD, Castaneda-Sanchez JJ, Bastian Y, et al. Analysis of miRNA expression in patients with rheumatoid arthritis during remission and relapse after a 5-year trial of tofacitinib treatment. *Int Immunopharmacol*. 2018;63:35-42.
190. Oka S, Furukawa H, Shimada K, Hashimoto A, Komiya A, Fukui N, et al. Plasma miRNA expression profiles in rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1):21.
191. Jiang Z, Tao JH, Zuo T, Li XM, Wang GS, Fang X, et al. The correlation between miR-200c and the severity of interstitial lung disease associated with different connective tissue diseases. *Scand J Rheumatol*. 2017;46(2):122-9.
192. Zhou LL, Zhu YM, Qian FY, Yuan CC, Yuan DP, Zhou XP. MicroRNA1433p contributes to the regulation of pain responses in collageninduced arthritis. *Mol Med Rep*. 2018;18(3):3219-28.
193. Li Z, Li Y, Li Q, Zhang Z, Jiang L, Li X. Role of miR-9-5p in preventing peripheral neuropathy in patients with rheumatoid arthritis by targeting REST/miR-132 pathway. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2018.
194. Alivernini S, Tolusso B, Petricca L, Bui L, Di Mario C, Gigante MR, et al. Synovial Predictors of Differentiation to Definite Arthritis in Patients With Seronegative Undifferentiated Peripheral Inflammatory Arthritis: microRNA Signature, Histological, and Ultrasound Features. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:186.
195. Kurowska W, Kuca-Warnawin E, Radzikowska A, Jakubaszek M, Maslinska M, Kwiatkowska B, et al. Monocyte-related biomarkers of rheumatoid arthritis development in undifferentiated arthritis patients - a pilot study. *Reumatologia*. 2018;56(1):10-6.
196. Moran-Moguel MC, Petarra-Del Rio S, Mayorquin-Galvan EE, Zavala-Cerna MG. Rheumatoid Arthritis and miRNAs: A Critical Review through a Functional View. *J Immunol Res*. 2018;2018:2474529.
197. Churov AV, Oleinik EK, Knip M. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: altered expression and diagnostic potential. *Autoimmunity reviews*. 2015;14(11):1029-37.
198. Wang W, Zhang Y, Zhu B, Duan T, Xu Q, Wang R, et al. Plasma microRNA expression profiles in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Oncotarget*. 2015;6(40):42557-68.
199. Ormseth MJ, Solus JF, Vickers KC, Oeser AM, Raggi P, Stein CM. Utility of Select Plasma MicroRNA for Disease and Cardiovascular Risk Assessment in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*. 2015;42(10):1746-51.

200. Bae SC, Lee YH. MiR-146a levels in rheumatoid arthritis and their correlation with disease activity: a meta-analysis. *Int J Rheum Dis*. 2018;21(7):1335-42.
201. Hong H, Yang H, Xia Y. Circulating miR-10a as Predictor of Therapy Response in Rheumatoid Arthritis Patients Treated with Methotrexate. *Curr Pharm Biotechnol*. 2018;19(1):79-86.
202. Jin F, Hu H, Xu M, Zhan S, Wang Y, Zhang H, et al. Serum microRNA Profiles Serve as Novel Biomarkers for Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2018;9:2381.
203. Ciechomska M, Bonek K, Merdas M, Zarecki P, Swierkot J, Gluszko P, et al. Changes in MiRNA-5196 Expression as a Potential Biomarker of Anti-TNF-alpha Therapy in Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis Patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018.
204. Dudics S, Venkatesha SH, Moudgil KD. The Micro-RNA Expression Profiles of Autoimmune Arthritis Reveal Novel Biomarkers of the Disease and Therapeutic Response. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8).
205. Krintel SB, Dehlendorff C, Hetland ML, Horslev-Petersen K, Andersen KK, Junker P, et al. Prediction of treatment response to adalimumab: a double-blind placebo-controlled study of circulating microRNA in patients with early rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics J*. 2016;16(2):141-6.
206. Sode J, Krintel SB, Carlsen AL, Hetland ML, Johansen JS, Horslev-Petersen K, et al. Plasma MicroRNA Profiles in Patients with Early Rheumatoid Arthritis Responding to Adalimumab plus Methotrexate vs Methotrexate Alone: A Placebo-controlled Clinical Trial. *J Rheumatol*. 2018;45(1):53-61.
207. Castro-Villegas C, Perez-Sanchez C, Escudero A, Filipescu I, Verdu M, Ruiz-Limon P, et al. Circulating miRNAs as potential biomarkers of therapy effectiveness in rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNFalpha. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:49.
208. Cuppen BV, Rossato M, Fritsch-Stork RD, Concepcion AN, Schenk Y, Bijlsma JW, et al. Can baseline serum microRNAs predict response to TNF-alpha inhibitors in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther*. 2016;18:189.
209. Duroux-Richard I, Pers YM, Fabre S, Ammari M, Baeten D, Cartron G, et al. Circulating miRNA-125b is a potential biomarker predicting response to rituximab in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:342524.
210. Chen ZZ, Zhang XD, Chen Y, Wu YB. The role of circulating miR-146a in patients with rheumatoid arthritis treated by *Tripterygium wilfordii* Hook F. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(20):e6775.
211. Zhang Y, Wang H, Mao X, Guo Q, Li W, Wang X, et al. A Novel Circulating miRNA-Based Model Predicts the Response to Tripterygium Glycosides Tablets: Moving Toward Model-Based Precision Medicine in Rheumatoid Arthritis. *Front Pharmacol*. 2018;9:378.
212. Nagata Y, Nakasa T, Mochizuki Y, Ishikawa M, Miyaki S, Shibuya H, et al. Induction of apoptosis in the synovium of mice with autoantibody-mediated arthritis by the intraarticular injection of double-stranded MicroRNA-15a. *Arthritis Rheum*. 2009;60(9):2677-83.
213. Lin J, Liu J, Davies ML, Chen W. Serum Vitamin D Level and Rheumatoid Arthritis Disease Activity: Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146351.

214. Buondonno I, Rovera G, Sassi F, Rigoni MM, Lomater C, Parisi S, et al. Vitamin D and immunomodulation in early rheumatoid arthritis: A randomized double-blind placebo-controlled study. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178463.
215. Fan P, He L, Hu N, Luo J, Zhang J, Mo LF, et al. Effect of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on Proliferation of Fibroblast-Like Synoviocytes and Expressions of Pro-Inflammatory Cytokines through Regulating MicroRNA-22 in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(1):145-55.
216. Jiang C, Zhu W, Xu J, Wang B, Hou W, Zhang R, et al. MicroRNA-26a negatively regulates toll-like receptor 3 expression of rat macrophages and ameliorates pristane induced arthritis in rats. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(1):R9.
217. Dang Q, Yang F, Lei H, Liu X, Yan M, Huang H, et al. Inhibition of microRNA-34a ameliorates murine collagen-induced arthritis. *Exp Ther Med*. 2017;14(2):1633-9.
218. Tao Y, Wang Z, Wang L, Shi J, Guo X, Zhou W, et al. Downregulation of miR-106b attenuates inflammatory responses and joint damage in collagen-induced arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(10):1804-13.
219. Chen Z, Wang H, Xia Y, Yan F, Lu Y. Therapeutic Potential of Mesenchymal Cell-Derived miRNA-150-5p-Expressing Exosomes in Rheumatoid Arthritis Mediated by the Modulation of MMP14 and VEGF. *J Immunol*. 2018;201(8):2472-82.
220. Li YT, Chen SY, Wang CR, Liu MF, Lin CC, Jou IM, et al. Brief report: amelioration of collagen-induced arthritis in mice by lentivirus-mediated silencing of microRNA-223. *Arthritis Rheum*. 2012;64(10):3240-5.
221. Wang ZC, Lu H, Zhou Q, Yu SM, Mao YL, Zhang HJ, et al. MiR-451 inhibits synovial fibroblasts proliferation and inflammatory cytokines secretion in rheumatoid arthritis through mediating p38MAPK signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(11):14562-7.
222. Wang L, Song G, Zheng Y, Wang D, Dong H, Pan J, et al. miR-573 is a negative regulator in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Cell Mol Immunol*. 2016;13(6):839-49.
223. Trenkmann M, Brock M, Ospelt C, Gay S. Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2010;39(1):10-9.
224. Chen XM, Huang QC, Yang SL, Chu YL, Yan YH, Han L, et al. Role of Micro RNAs in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Novel Perspectives Based on Review of the Literature. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(31):e1326.