

СЪВРЕМЕННИ АКЦЕНТИ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА АРТРОЗНАТА БОЛЕСТ

И. Момчева¹, В. Гончев², М. Вълков¹

¹Отделение по ревматология, УМБАЛ – Бургас

²Бургаски държавен университет „Проф. д-р Ас. Златаров“ – Бургас

Резюме. Мултифакторната патогенеза на артрозната болест (ОА) и многообразието от фенотипни изяви са обект на дискусии през последните години. Докладът обобщава последните данни от клинични изследвания относно патогенезата (ПГ) на ОА. Разгледани са аспекти в ПГ като: последствия от травма, участие на протеини на топлинния шок, митохондриална дисфункция, смущения в JAK/STAT сигналния път, нискостепенно фокално възпаление, роля на различните популации макрофаги, на скъсяване на теломерите в процеса на стареене и др. Специално внимание е отделено на участието на генетични и епигенетични фактори в мултифакторната патогенеза на остеоартрозата. Последните, чрез механизми на модулиране на генната експресия: метилиране и деметилиране на ДНК, хистонови модификации, ацетиране и деацетиране, активиране на микро РНК-и, допринасят за заглушаване или повишена експресия на гени, асоциирани с ОА. По този начин се поддържа фината посттранскрипционна настройка, което увеличава резистентността към хронични заболявания, в това число и ОА. Познанията относно епигенетичния контрол могат да осигурят по-задълбочено, холистично разбиране на етиологията и патогенезата на ОА и да ни дадат бъдещи насоки за нейното управление.

Ключови думи: остеоартроза, епигенетика, метилиране, ДНК, РНК, хистони

ВЪВЕДЕНИЕ

Остеоартрозата (ОА) е най-често срещаното хронично ставно заболяване и става все по-сериозен проблем за общественото здраве в глобален мащаб. Многофакторната патогенеза и рисковите фактори за болестта биха могли да се обобщят на четири нива.

Първото ниво са различните рискови фактори и тяхната иницираща роля за задействане на патогенетичните механизми. Свързаните с ОА рискови фактори могат да бъдат разделени на присъщи и индивидуални. Присъщите рискови фактори за ОА не се влияят от външни условия. Те включват генетика [1] стареене [2] и пол [3]. Индивидуалните рискови фактори за ОА са набор от външни условия, които се определят от индивидуалните различия в начина на живот и могат да доведат до развитие или прогресиране на болестта. Тези фактори варират и се влияят от различни условия на живот и навици – хранителен режим, физическа активност, условия на труд, коморбидни състояния и тяхното лечение [4], затлъстяване [5], натоварване на ставите [6], травма [7] и метаболитен синдром [8]. Взаимодействието на тези фактори допринася за активирането на множество патофизиологични меха-

низми, които водят до инициране и прогресия на ОА.

Второто ниво включва ефектите на потенциалните патофизиологични механизми. Сред тях нискостепенното възпаление играе централна роля в патогенезата на ОА. Активирането на каскадата на възпалението чрез секрецията на провъзпалителни цитокини (IL-1, IL-6, TNF-α и др.), активирането на клетъчните и хуморалните фактори на вродения имунен отговор допринасят за прогресията ѝ [9]. В процеса на стареене и/или при наличие на рискови фактори като травма и прекомерно механично натоварване, присъствието на клетъчни фрагменти от деструктурирани клетки в ставите ускорява дегенерацията на ставните тъкани и разграждането на екстрацелуларния матрикс [10, 11].

Третото ниво включва промени във вътреставния фенотип на молекулярно ниво. Под въздействието на посочените във второ ниво патофизиологични механизми хондроцитите започват да продуцират катаболни фактори като матриксни металопротеинази (MMPs), ADAMTSs и А-дезинтегрин, които се считат за отговорни за разграждането на екстрацелуларния матрикс [12, 13]. При натрупване на ефектите от повишената катаболна активност настъпва постепенна загуба на агрека-

ни, последвана от разграждане на колаген тип II и разрушаване на колагеновата мрежа [14]. Едновременно с това мезенхимните стволови клетки в периоста и/или в синовията се активират и претърпяват хондрогенеза и осификация, което обяснява образуването на остеофити [15].

Четвърто ниво на патогенезата е свързано с хистологични промени в ставните тъкани във времето. В ранните стадии на ОА има леки увреди на ставния хрущял, водещи до дисфункцията му и придружени от хипертрофия на повърхностния слой хондроцити [16]. С напредването на болестта структурната цялост и функционалната годност на ставния хрущял прогресивно се нарушават. Субхондралната кост претърпява ремоделиране, променя се трабекуларна ѝ структура и се образува нова кост [17]. Прогресиращото увреждане на менискусите [18], дегенерацията на лигаментарния апарат [19] и мускулната атрофия допринасят за дестабилизацията на ставите [20]. Нискостепенното фокално възпаление на синовиалната мембрана и инфрапателарната мастна тъкан също допринася за дегенерация на хрущяла [21]. Ставното нискостепенно фокално възпаление е причина за клиничните изяви на ОА, за акселериране на болката в засегнатите стави, оток и двигателен дефицит [22]. При авансирано заболяване се наблюдава целият спектър от хистологични промени и клинични прояви на ОА.

Въпреки че са разделени на различни нива, тези патогенетични процеси са взаимно обусло-

вени и функционално свързани. По този начин те предизвикват съответните клинични симптоми като болка, оток, скованост, ограничена подвижност на ставите и мускулна слабост. Ранните симптоми на ОА може да са ограничени по локализация, по време и да са спорадични като честота и степен на изява, но тежестта на тази изява прогресира с напредване на заболяването. В следващата част от обзора се разглеждат 4 топика в патогенезата на ОА, които внасят съвременно разбиране за заболяването и са с потенциал за търсене на биомаркери за ранна болест.

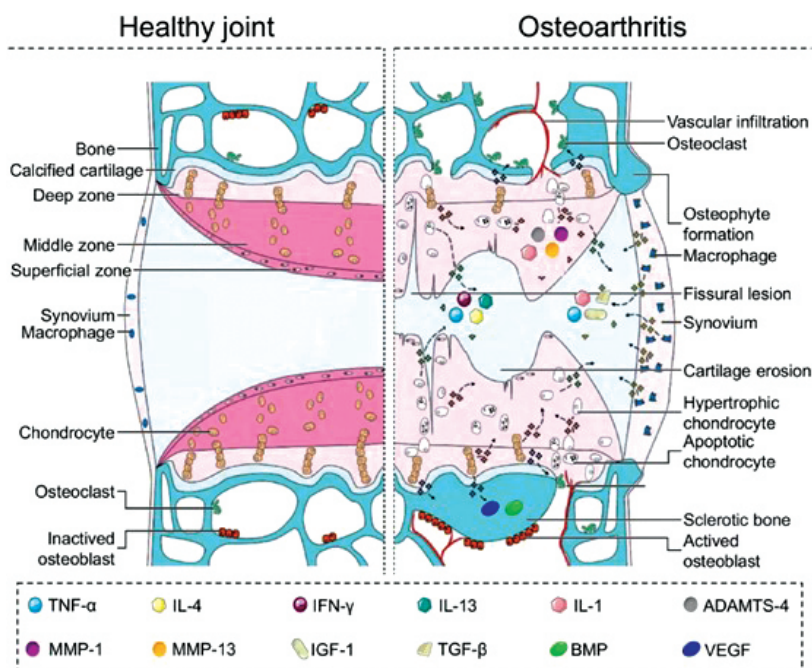
ТРАВМА И ОСТЕОАРТРОЗА

Както след травма, така и при ОА, първото структурно увреждане възниква в повърхностните слоеве на хрущяла, което води до загуба на протеогликани в екстрацелуларния матрикс и увреда на мрежата от колагенови влакна [23]. Впоследствие хондроцитите дегенерират, намаляват на брой, което в началните стадии се наблюдава като незначителни локализирани увреждания в повърхностните слоеве на артикуларния хрущял. С времето тези увреди могат да се разпространят в средните и дълбоките слоеве на хрущяла [24]. В резултат на това при натоварване хрущялът в остеоартрозната става няма капацитета на хрущяла в здрава става. Бедният клетъчен състав на артикуларния хрущял и неговата аваскуларност допълнително ограничават способността

му за възстановяване след нараняване [25]. Когато и лечението на хрущялната увреда е неадекватно, ненавременно или неефективно, резултатът е остеоартроза.

HEAT SHOCK PROTEINS И ОСТЕОАРТРОЗА

Протеините на топлинния шок (HSP), са молекули, които се произвеждат от клетките в условия на стрес от околната среда. Те участват в защитата на структурната цялост и функцията на клетките. Те поддържат клетъчната протеостаза. Семействата HSP се класифицират въз основа на тяхното молекулно тегло, като включват главно големи (HSP90, HSP70, HSP60, HSP40) и малки HSPs. Те функционират като молекулярни шаперони в клетките, т.е. помагат на големи



Сигнални пътища и хрущялни структурни промени при ОА, 2022, Elsevier

молекули да се сгъват и разгъват [26]. В допълнение към техните функции на шаперон те играят важна роля в трансдукцията на клетъчния сигнал и регулирането на апоптозата. Така че дисфункцията на HSPs е свързана с много заболявания, включително рак, невродегенеративни, възпалителни, автоимунни, сърдечно-съдови и др. Екстрацелуларните HSPs действат като предупредителни сигнали за стрес, подготвяйки други клетки, в частност клетки на имунната система, за да ограничат разпространението на увредата. Проведено е изследване, чиято цел е да се открият свързаните с възрастта промени в нивата на HSPs, хемокини и маркери за разграждане на колаген в кръвта на пациенти с остеоартроза [27]. Изследването разкрива, че участието на HSPs в патогенезата на остеоартрозата, изглежда, е сложен и многостепенен процес. Под въздействието на външни рискови фактори HSP70 действа като адювант към имунната реакция, включваща хемокин CXCL17. Той допринася за CXCL17-зависимото активиране на дендритни клетки и макрофаги. По този механизъм се инициира локално нискостепенно възпаление. Хондроцитите и остеобластите, подложени на цитокинова атака, не са в състояние да отговорят на свръхекспресията на HSP70 и HSP27. С напредване на артрозната болест напредва и локалната тъканна реакция, където процесите на хипертрофична диференциация на хондроцитите и клетките на субхондралната кост играят важна роля. Изследвани са нива на циркулиращия HSP70 при пациенти с колянна остеоартроза и са установени значително по-високи стойности в сравнение с тези при здрави доброволци [28]. Анализът на данните от това проучване разкрива, че стойностите на HSP70 както циркулиращи, така и синовиални, са пропорционално свързани с рентгенографската тежест на ОА на коляното. С напредването на ОА HSP70 се открива в хондроцитите на по-дълбоките слоеве на хрущяла на коляното, т.е. вероятен механизъм е промяна в локализацията му в хиалинния хрущял. В този аспект HSP70 притежава потенциална роля като прогностичен биомаркер за проследяване на остеоартроза и като клиничен диагностичен инструмент.

JAK/STAT сигнален път и ОА

Сигналният път на Janus киназите (JAKs) и сигналният преобразовател и активатор на транскрипция (STAT) са открити преди повече от четвърт век. Като опорна точка на много жизнено-

важни клетъчни процеси, JAK/STAT сигналният път представлява модул за бърза сигнализация от мембраната към ядрото на клетката и индуцира продукцията на различни провъзпалителни и неоплазмени медиатори [29, 30]. Все повече доказателства сочат, че дисрегулацията на пътя JAK/STAT е патогенетично свързана с различни видове злокачествени и автоимунни, както и дегенеративни заболявания. Активирането на JAK/STAT сигналният път при ОА резултира във възпалителен отговор. Индуцира се производство на провъзпалителни цитокини като TNF- α , IL-1 β и IL-6, участващи в патогенезата на ОА [31]. Установено е, че има известно припокриване между нивата на провъзпалителни цитокини като TNF- α , IL-1 β , IL-6 при пациенти с ОА [32]. IL-1 β индуцира производството на IL-6, който активира катаболните и инхибира анаболните процеси в ставния хрущял [33]. По-високите нива на IL-6 в серума и синовиалната течност се свързват с по-бърза прогресия на ОА. IL-1 β също индуцира апоптоза на хондроцитите [34]. Това се дължи на факта, че той чрез IL-6 активира MMPs и ADAMTSs – основните медиатори на катаболизма, които променят метаболитния баланс на хондроцитите и активират хрущялна деградация [35]. Множество изследвания доказват, че IL-6 индуцира активирането на JAK/STAT сигналният път в различни органи и системи. Прогресията на ОА е неразривно свързана с активността на оста IL-6/JAK-STAT пътя [36]. IL-6 и неговият разтворим рецептор sIL-6R засилват дегенерацията на хрущяла чрез стимулиране производството на ADAMTS-4, ADAMTS-5/11, MMP-1, MMP-3 и MMP-13. Тези металопроотеинази също са регулирани от STATs [37]. Прекъсване на свързването на IL-6/sIL-6R може да намали експресията на MMPs, да намали деградацията на екстрацелуларния матрикс и по този начин да забави прогресията на ОА. Респективно намалените серумни нива на IL-6 и IL-17 могат да предотвратят съпътстващото нискостепенно локално синовиално възпаление [38]. TNF- α също има потенциала да активира продукцията на MMPs, които да ускорят дегенерацията на хрущяла [39]. Подобни регулаторни ефекти могат да бъдат свързани с въздействие на други провъзпалителни цитокини, като TNF α , IL-4, IL-10, IL-13, IL-17 и IL-23. Доказано, IL-4 има противовъзпалителен ефект спрямо хондроцитите [40] и се смята, че JAK/STAT пътят играе важна роля в регулирането на сигнализацията на IL-4. IL-4 чрез JAK/STAT пътя има хондропротективна роля чрез инхибиране на експресията на MMP13

[41, 42]. Взаимодействието на IL-10 с неговите два рецептора IL-10R1 и IL-10R2 може да активира JAK/STAT сигналния път [43]. IL-23 може да индуцира синовиално възпаление и субхондрални костни промени с помощта на STAT3 [44].

Апоптозните сигнални пътища също са замесени в развитието на ОА. Тъй като JAK/STAT сигналният път има ключова роля в регулирането на апоптозата, той е тясно свързан с процесите на възпаление и прогресирането на ОА. Установено е, че експресията на фосфорилиран JAK3 и STAT6 се повишава при прилагане на комбинация от IL-4 и умерено механично натоварване [45].

Макрофагите са най-често срещаните имунни клетки в синовиалните стави и са основните врождени имунни ефекторни клетки, които инициират възпалителен отговор в патогенезата на ОА [46]. STAT1 и STAT3 повлияват възпалителните реакции с участие на макрофагите [47]. IL-13 и IL-4 активират макрофагите от M2-фенотип чрез активиране на JAK2/STAT3 сигналния път, а IL-4 фосфорилира STAT3 и STAT6 и стимулира свързването на DNAs със STAT3. IL-13 активира фосфорилирането на TYK2, оттам – на STAT1 и STAT6, и повишава DNA-свързващата активност на STAT1 [48]. IL-6 може да активира макрофагите от M1-фенотип също чрез JAK2/STAT3 сигналния път [49]. Други проучвания сочат, че повишеното съотношение M1/M2 фенотипове на макрофагите също корелира с тежестта на ОА. Докато активираните M1-макрофаги са свързани с високо производство на провъзпалителни цитокини като IL-1, IL-6, IL-12, IL-23 и TNF- α [50], то M2-макрофагите могат да допринесат за понижаване нивата на тези цитокини, активирайки противовъзпалителни и имunosупресивни реакции и вземайки участие в очистването на патогените и клетъчен детрит, заздравяването на рани, тъканното ремоделиране и имунната регулация. Потенциално засилването на активността на M2-макрофагите може да противодейства на патологичните промени при ОА [51]. Увеличаването на броя на M2-макрофагите, намаляването на дела на M1-макрофагите и намесата в активирането на STAT6 има потенциала да подобри хомеостазата на хрущяла и да потисне прогресията на ОА.

JAK/STAT сигналният път участва и в ремоделирането на хрущяла. Доказано е, че повишените нива на STAT3 се асоциират със ставна и мускулна дисфункция при пациенти с ОА [52]. Това предполага, че JAK/STAT сигнализацията може да повлияе хомеостазата на ставите, както и субхондралното костно ремоделиране и

мускулната загуба. Проучване е доказало, че активирането на JAK2/STAT3 пътя има отношение към намаляване производството на колаген тип II в хондроцитите [53]. Активирането на JAK/STAT3 сигналния път в хондроцитите, може да бъде индуцирано от IL-1 β , което предизвиква експресия на MMPs [54].

Семейството протеини – SOCS, са инхибитори на отрицателна обратна връзка на сигнализиране, индуцирано от цитокини. Те осъществяват своята функция също чрез JAK/STAT сигналния път. Семейството на SOCS включва седем члена: SOCS1, SOCS2, SOCS3, SOCS4, SOCS5, SOCS6 и SOCS7. SOCS1-3 протеинът осигурява регулация на цитокиновото сигнализиране с обратна връзка чрез JAK/STAT сигналния път [55]. SOCS1 и SOCS3 могат да инхибират активността на JAK1, JAK2 и TYK2, но не и на JAK3. SOCS 4-7 регулират сигнализирането на рецептора за растежен фактор [56]. Активираните STAT могат да стимулират транскрипцията на SOCS гени, както и взаимодействието между SOCS и фосфорилираните JAK. Това би могло да доведе до блокиране на JAK/STAT пътя [57]. Доказано е, че лептинът може да стимулира експресията на IL-6, MMP-1, MMP-3 и MMP-13 и да намали експресията на SOCS3. Потискането на SOCS3 има потенциала да индуцира възпалителни реакции и да потенцира медираната от лептин експресия на MMP-3 в ОА хондроцити [58]. Тези факти предполагат възможността SOCS да станат още една терапевтична цел за ОА.

Смущенията в пътя на JAK-STAT могат да доведат до различни патологични промени, които са от значение за много от клиничните аспекти на ОА (преживяемост и апоптоза на хондроцити, опит за регенерация, деградация на екстрацелуларен матрикс). Има доказателства, че съвременните антиревматични средства модулират активирането на JAK/STAT пътя [59]. От съществено значение е да се открие и степента, до която JAK инхибиторите променят експресията на MMP в хондроцитите. Доказано е, че JAK инхибиторите могат да поддържат хомеостазата на ставната тъкан чрез модулиране на ефектите на IL-6. Блокирането на JAK2 или JAK3 намалява експресията и ензимната активност на MMP-13, ADAMTS-4 и ADAMTS-5 и предотвратява деградацията на колаген II. Предполага се, че JAK инхибиторите могат да поддържат хондрогенната диференциация и да активират регенерацията на хрущяла чрез стимулиране активността на мезенхимните стволови клетки [60]. Както JAK1, така и JAK2

инхибиторите блокират TNF- α -индуцираното STAT3-фосфорилиране и свързването на STAT3 към DNAs [61]. Тези факти дават обосновка за разработването на лекарства за ОА чрез модулиране активността на JAK-STAT сигналния път.

ЕПИГЕНЕТИКА В ПАТОГЕНЕЗАТА НА ОА

Макар че ОА се асоциира с възможна генетична предиспозиция, във времето се утвърждава тезата, че геномът не е основната причина за болестта. Многобройни проучвания не успяват да установят гени с високо ниво на значимост, асоциирани с по-висока честота на заболяването. Настоящите доказателства подкрепят теорията за полигенно унаследяване на предразположеността. Проучванията обаче показват, че повече от 80% от свързаните с болестта генни варианти са разположени в некодиращи области на генома [62]. Този факт води до тезата, че по-скоро епигенетиката, като ключов елемент за регулиране на генната експресия, е замесена както във възникването, така и в прогресията на ОА. Утвърдената към момента парадигма разглежда заболяването като процес, включващ взаимодействия между широк спектър генетични фактори и фактори на околната среда. Епигенетичните модификации за разлика от геномните, са по-гъвкави и обратими. Епигенетични фактори могат да доведат до транскрипционни промени, които да се окажат определящи в патогенезата на ОА. В резултат на казаното дотук се предполага, че не толкова промените в последователността на генетичния код, а именно промените в генната експресия играят по-голяма роля във възникването и прогресията на болестта [63].

Понастоящем терминът „епигенетика“ се отнася до наследствени и динамични промени, които не включват промяна в основната последователност на DNA веригите, а се проявяват в адаптиране на конформацията на хроматина с цел регулиране на генната експресия [64]. Молекулярната основа на епигенетичните механизми включва метилиране на DNA, модификации на хистони и регулиране на генната експресия чрез некодиращи RNA [65].

Метилирането на DNA е един от механизмите, който регулира човешката хондрогенеза. Установено е, че промените в моделите на метилиране на DNA корелират с проявите на остеоартроза [66]. Helmltrud и съавт. са първите, които са изследвали отделни локуси на метилиране. Те изследват количествено метилирането на

проксималните промоторни региони на агрека-наза 1 и матриксна металопротеиназа 2 (желатиназа А), MMP3 (стромелизин 1), MMP9 (желатиназа В) и MMP13 (колагеназа 3) [67]. Доказват, че степента на деметилиране на поне едно CpG място във всеки ензим при ОА е статистически по-висока, отколкото в контролната група. В проучване през 2014 Fernandez-Tajes и сътр. идентифицират фенотипна подгрупа пациенти с ОА, характеризиращи се с повишен локален възпалителен отговор, който може да бъде регулиран от епигенетиката [68]. Друго изследване показва, че глобалното DNA метилиране може да се използва като мощен инструмент при молекулярно характеризиране на ОА и като потенциален диагностичен маркер [69]. В последващи изследвания на хрущялна тъкан са открити допълнителни места за метилиране на DNA при ОА и тези гени могат да бъдат класифицирани в четири основни категории:

- Първата категория се отнася до хомеостазата на извънклетъчния матрикс и включва COL2A1, COL9A1, COL10A1, ACAN, MMP2, MMP3, MMP9, MMP13, ADAMTS-4 [70].

- Втората категория са молекулите, свързани с възпалението, като IL-1b, IL-8, IL-32, TGF- β 2, IL-1RN и WNT11 [71].

- Третата категория са SOX4, SOX9, RUNX2 и SOD2, които участват в поддържането на хрущяла [72].

- Четвъртата категория са растежни фактори като BMP7, SOST и GDF5 [73].

Проучване установява връзка между полиморфизмите на DNA метилтрансферазата (DNMT) и първичната артроза на колянна става [74]. В отговор на IL-1 хондроцитите на преходната зона засилват експресията и активността на DNMT1. Eilis и съавт., през 2018, са изследвали метилирането на DNA на 850 000 места в генома, използвайки MethylationEPIC BeadChip в проби от продължителното проучване в Обединеното кралство [75]. Те откриват 548 значими локуса на DNA метилиране между 2 907 234 генетични вариации и 93 268 места за метилиране на DNA, което означава 548 значими локуса на DNA метилиране. Тези открития показват, че метилирането на DNA може да повлияе както на генната и некодираща RNA експресия, така и на генната транскрипция и транслация. Известно е, че метилирането на DNA варира значително в тъканите в зависимост от стадията на заболяването [76]. Оттам идва и проблемът от кои структури да бъдат взети биологични проби за клинични

изследвания на метилирането. Въпреки тези затруднения откритията в тази област добавят ново познание към сегашното разбиране за ролята на епигенетиката при ОА. Проучванията в целия геном потвърждават и внасят по-голяма яснота във взаимодействието между генетиката и епигенетиката при ОА. Фернандес-Тахес и съавт. са изследвали метилирането на DNA в целия геном на ставни човешки хондроцити, за да идентифицират специфични профили на метилиране на DNA при ОА. Те са изследвали кохорта от 25 пациенти с ОА и 20 здрави контроли. В тази подгрупа пациенти с ОА са открити 1357 диференцирано метилирани проби. Освен това 450 гена са диференциално експресирани при пациентите с повишен възпалителен отговор, който може да бъде епигенетично регулиран [77].

Друг епигенетичен механизъм са посттранслационни хистонови модификации (PTM). Първоначално се е считало, че хистоните функционират като статично скеле за опаковане на DNA. Впоследствие се оказва, че те са динамични протеини, които претърпяват различни посттранслационни модификации. Има 5 хистонови семейства (H1-H5), разделени на две групи. Някои ацетилияния и някои метилирования на лизини са активиращи сигнали за генни транскрипции. Хистон H3 е модифициран от голям брой PTM, включително ацетилияне, метилиране и фосфорилиране [78]. Хистоновото метилиране е от значение за правилното програмиране на генома по време на развитието и смущения в този процес може да доведат до болестни състояния [79]. В най-общ смисъл хистоните могат да бъдат модифицирани от хистонови деацетилази (HDACs) или от хистонови ацетилтрансферази (HATs) и в резултат на това да станат повече или по-малко кондензирани. Повишеното активиране и експресия на хистоновите деацетилази може да бъде от значение в патогенезата на колянната артроза. Повишената експресия на HDAC модулира активността на miR-146a, която активира възпалителния отговор при колянна остеоартроза [80]. UTX е хистонова деметилаза. Lian и сътр. през 2022 г. проучват как UTX променя фенотипа на ставния хрущял, стимулирайки анаболни процеси в него или активирайки фенотипната дедиференциация на екстрацелуларния матрикс [81]. Доказателствата, че хистоновите посттранслационни модификации могат да играят значителна роля в ОА, нараснаха през последните няколко години, но ролята на хистоните в началните стадии на ОА остава до голяма степен неизвестна. Това от-

части се дължи на трудността за вземане на проби от структурно сложния ставен хрущял с ниска клетъчна наличност, отчасти на инвазивността на процедурата. Наскоро се публикува протокол за извличане на хистони от човешки ставен хрущял с надежда това да подпомогне разбирането на влиянието на хистоните в патогенезата на ОА [82]. Подобно на ацетилиянето на хистони, промените в метилирането на хистони често са свързани с променена генна експресия и промяна в сигнални пътища в хондроцитите. В допълнение към метилирането на хистони процесът на деметилиране също участва в патогенезата на ОА [83]. Повишено ниво на деметилази е открито в хрущял от тибялното плато на колянна артроза.

Сиртуините (SIRT6) са NAD⁺ (никотинамид аденин динуклеотид)-зависими ензими. Функционират като деацетилази, които премахват ацетилни групи от клетъчни протеини и по този начин променят тяхната функция. Деацетилят се протеини в цитоплазмата, регулиращи клетъчния метаболизъм и протеини в ядрото, където деацетилиянето регулира експресията на гени. Доказано е, че SIRT6 и SIRT6-зависимият епигенетичен контрол играят жизненоважна роля във възстановяването на DNA при възпаление и при свързаните със стареенето заболявания. Сиртуините при човек са 7 типа и са локализирани в различни части на клетката. SIRT6 е от съществено значение за поддържане на хомеостазата на хиалиния хрущял. Той е най-проучваният сиртуин в областта на ставната патология. В много *in vitro* и *in vivo* проучвания е доказано, че SIRT6 участва в патогенезата на ОА, играейки роля в апоптозата, възстановяването на хрущялния матрикс и костната хомеостаза. Повишената експресия на SIRT6 повишава експресията на гени, отговорни за производство на ECM. Доказано е, че SIRT6 може да контролира пролиферацията и диференциацията на хондроцитите. Хипертрофията на хондроцитите и производството на протеогликан са намалени при мишки с дефицит на SIRT6. SIRT3 се намира най-вече в митохондриите и неговата деацетиляраща активност регулира митохондриалната функция, регенерацията и кинетиката. Във връзка с тези данни се счита, че SIRT3 играе важна роля за митохондриални адаптации и забавянето на стареенето [84].

МикроPHK (miRNAs) са малки едноверижни некодирани RNAs (ncRNAs) с дължина 21-25 нуклеотида, които функционират като посттранслационни супресори [85]. Намесват се в контрола на биологични процеси като клетъчна

пролиферация, апоптоза, диференциация или органогенеза. Множество изследвания показват, че miRNAs играят основна роля в развитието и правилното функциониране на придобития и вродения имунитет [86]. С помощта на комплекс от белтъци те могат да предизвикат нарязване на информационни RNAs (iRNAs). Тези iRNAs се явяват техни мишени и нарязването им потиска експресията на съответните гени. Подклас от miRNAs, наречени циркулиращи miRNAs (cmiRNAs), е привлякъл вниманието поради техния потенциал за медиране на кръстосани сигнализации клетка-клетка и тъкан-тъкан. Тези вътреклетъчни медиатори се произвеждат в различни тъкани в отговор на физиологични и патологични стимули и се секретират в кръвта, където могат да циркулират до съответните им тъкани мишени реципиенти, за да модулират генната експресия в тях [87]. Освен това miRNAs могат да повлияят на транслацията на ензими, участващи в модификацията на хистони и DNA метилирането [88]. MiRNAs участват в хода на множество биологични процеси: контрол на вродения и адаптивния имунитет; поддържането на стабилността на генома; устойчивостта на стресови фактори; растеж на клетките, диференциация, пролиферация и апоптоза; възпаление. Те вземат участие в туморогенезата, клетъчната миграция и инвазия при прогресията на множество неоплазми. MiRNAs регулират узряването и диференциацията на имунни клетки. Група miRNAs участват в В- и Т-клетъчната регулация [89]. Свърхекспресията на miR-150 блокира развитието на В-клетките. MiR-199a-5p е свързана с инхибиране на диференцирането на моноцити/макрофаги [90]. Специфични miRNAs се асоциират с правилното функциониране на дендритните клетки, способността им за антигенна презентация, както и за продукция на цитокини. Експресията на TLR върху макрофаги и дендритни клетки се регулира от miRNAs [91]. Прицелният ген на miRNA-155 в тях е супресор на цитокиновото сигнализиране. Следователно дефицитът на miR-155 би могъл да доведе до нарушения във функцията на дендритните клетки [92]. MiRNAs повлияват и функцията на макрофаги/моноцити [93], които са основните клетъчни участници в нискостепенното възпаление при артрозна болест. Напредъкът на молекулярната биология разкри многостранното влияние на miRNAs като „фина постраскрипционна настройка“ на имунната система. Стана ясно, че те играят важна роля в съзряването,

диференциацията и регулирането както на вродения, така и на адаптивния имунитет [94].

Изследването на miRNAs е обект на множество клинични проучвания при ОА. MiR-140 е специфично експресирана в хрущяла [95] и има съществена роля в хондрогенезата. В остеоартрозния хрущял експресията на miR-140 е значително намалена в сравнение със здрав хрущял, което води до експресията на гени с негативни ефекти при ОА [96]. IL-1 β значително намалява експресията на miR-140 и успоредно с това повишава експресията на катаболните MMP13 и ADAMTS5 [97]. MiR-146a също е експресирана в хрущяла, особено в хондроцитите, разположени в повърхностния му слой. Тези резултати предполагат, че miRNAs могат да действат като медиатори в метаболизма на хондроцитите на молекулярно ниво [98]. Няколко miRNA с противоположни роли са идентифицирани в патофизиологичните процеси при ОА. Докато Kang и съавт. установяват, че miR-204 потиска синтеза на простагландини и индуцира стареенето на хондроцитите в условия на стрес, Huang и съавт. твърдят, че miR-204, заедно с нейния хомолог miR-211, оказват благоприятно въздействие върху хомеостазата на хрущяла и потискат прогресията на артрозната болест [99]. Дефицитът на miR-204/-211 в мезенхимни прогениторни клетки повишава експресията на катаболни маркери, индуцирайки ОА в миши модели [100]. MiRNAs могат да взаимодействат с хистони и ензими, създавайки сложни епигенетични регулаторни механизми. Yin и съавт. изследват експресията на miR-140-5p и miR-140-3p в синовиална течност при гонартроза, като установяват, че и двете miRNAs са значително понижени в сравнение с нивата, получени от синовиална течност от здрави коленни стави. Изводът е, че експресията на miR-140-5p и miR-140-3p е отрицателно корелираща с тежестта на ОА [101]. Освен това Si и сътр., 2017 г. установяват, че вътреставното инжектиране на miR-140 регулира хомеостазата на ECM в модел на ОА при плъх, намалявайки прогресията на заболяването. Обратно, miR-210 се открива в повишени титри в синовиалната течност от пациенти с ОА в ранен стадий и може да бъде диагностичен маркер при ранната диагностика на болестта [102]. В комбинация с други лечебни стратегии miRNAs имат потенциал както за биомаркери, така и като терапевтична цел при ОА. Тази стратегия може да спомогне за регенерацията на ставите или да забави прогресията на заболяването в ранните му стадии.

JAK/STAT сигналният път се свързва с експресията на miRNA-224 в остеогенната диференциация. Обратно, miRNA-224-5p може да активира дегенерацията на хрущяла и да влоши OA чрез активиране на JAK2/STAT сигналния път [103]. Доказано е, че miRNA-149-5p е ранен биомаркер на OA, а JAK инхибиторите проявяват терапевтични ефекти при OA чрез инхибиране на експресията ѝ [104]. Оста MiR-149/JAK1/IL-6/TNF- α има важна роля в поддържането на хомеостазата на ставната тъкан. По-специално, miR-224-5p активира пътя JAK2/STAT, което води до дегенерацията на хрущяла и ускорява проявата на симптомите при пациенти с OA [105]. Тофацитиниб повлиява експресията на miR-149 и инхибира оста JAK/IL-6/TNF- α , потискайки проявите на артрозна болест при мишки. MiR-223 може да усилва възпалителните процеси в артрозната става чрез активиране на JAK2/STAT1 сигналния път в хондроцитите, увеличавайки експресията на MMP-3 и ускорявайки разграждането на ECM [106]. Хипоксичното въздействие може да засили възстановителните процеси в хрущяла при OA чрез стимулиране на пролиферацията и едновременно потискане на апоптозата на хондроцитите чрез сигнализацията miR-18/JAK/STAT [107].

Зрелите miRNAs се свързват с комплементарни iRNAs последователности на целеви гени и блокират генната експресия, както и потискат транслацията [108]. През 2020 г. Lian и съавт. установиха, че в хондроцитите на пациенти с артропластика miR-483, miR-22, miR-377, miR-103, miR-16, miR-223, miR-2b, miR-23b и miR509 са повишени, а miR-29a, miR-140, miR-25, miR-337, miR-210, miR-26a и miR-373 са намалени [109]. Генетичните сигнатури на тези miRNAs ясно разграничават хондроцитите при остеоартроза от здрави хондроцити. MiR-140 е свързана с OA и може да бъде открита в периферното кръвообращение или синовиалната течност при напреднала болест [110]. В ставния хрущял на пациенти с OA MiR-146a е с повишена експресия. При тях екстрацелуларният матрикс е активно ремоделиран от съпътстващо нискостепенно възпаление, което води до промяна на биомеханичните свойства на хондроцитите и ускорява протичането на OA [111]. Тези данни са в подкрепа на тезата, че MiR-146a играе важна роля във възпалителния компонент на OA [112]. Други miRNAs, свързани с разграждането на екстрацелуларен матрикс, са miR-137, miR-449, miR221, miR-30a, miR-19b-3p, miR-634, miR-29, miR-107, miR-497-5p, miR-26a, miR-101. Някои miRNAs,

като miR-378 в синовиалната течност, могат да променят нивото си на експресия с прогресията на заболяването. Въз основа на тези заключения Bartholomew през 2014 г. изказва мнение, че вътреставното инжектиране на определени miRNAs има потенциала да обърне прогресията на заболяването, което би било революция в лечението на остеоартрозата [113]. Wang и кол. изследват участието както на lncRNAs, така и на miRNAs в появата и развитието на колянна артроза. Те откриват, че 186 lncRNAs и 684 miRNAs са експресирани в дегенериралите хондроцити при колянна артроза. [114] Ролята на miR-146a-5p е анализирана в друго проучване [115], където авторите откриват връзка с протеин, участващ в апоптозата на хондроцитите и процесите на автофагия: miR-146a-5p стимулира апоптозата и потиска автофагията в хондроцитите. Установено е, че miR-146a-5p е силно експресирана в тъкан от коляно с артрозна болест. Вътреставното инжектиране на антагонист на miR-146a-5p забавя прогресията на гонартрозата. Последните проучвания показват, че miRNAs също играят важна роля в митофагията, процес на автофагия, който разгражда увредените или дисфункционални митохондрии. Инхибирането на miR-126-5p води до потискане на митофагията и митохондриалната деградация, което гарантира устойчивост на хрущяла към увреди. Обяснението на този факт е, че митохондриите са мощни регулатори на хондралната хомеостаза и е установено, че в хода на гонартрозата те дегенерират [116]. Свърхекспресията на miR-103a-3p инхибира апоптозата на хондроцитите и възпалението при OA [117]. Друго изследване на Endisha и съавт. установява, че експресията на miR-34a-5p както в хрущяла, така и в синовиата, се увеличава при пациенти с колянна артроза. Синовиумът и хрущялът на мишки, третирани с вътреставни инжекции на miR-34a-5p, показват признаци на дегенерация (нарушаване целостта на хрущяла, поява на фисури в него, синовиална пролиферация и др.), подобни на тези при OA [118]. Вътреставното инжектиране на miR-34a-5p има провъзпалителен ефект при гонартроза. В проучване на Tavallaei и съавт. се наблюдава повишено ниво на miR-27b-3p в синовиалната течност на пациенти с късен стадий на гонартроза. Нивата на тази miRNA корелират с тежестта на OA. Ефектите от инжектирането на miR-27b-3p в коленете на миши модели са описани като фенотип, с прояви на синовит, синовиална фиброза, повишени нива на маркери

за възпаление, плюс профибротичен отговор във фибробластоподобните синовиоцити [119].

Друг ръкопис от Jin и съавт. оценява ефекта на съдържащите се в екзозомите от мезенхимни стволови клетки (MSC) на човешки костен мозък miRNAs при лечението на гонартроза. Екзозомите, получени от MSC на костен мозък, предотвратяват дегенерацията на хрущяла и remodelирането на субхондралната кост в модел на гонартроза при плъх. Те могат да поддържат фенотипа на хондроцитите чрез индуциране на синтез на колаген тип II и инхибиране на IL-1 β -индуцираното стареене и апоптоза. Екзозомната lncRNA, MEG-3, също забавя стареенето и апоптозата на хондроцитите, индуцирани от IL-1 β [120]. За разлика от microRNAs, които разчитат предимно на комплементарно сдвояване на RNA последователност за потискане на целевите гени, lncRNA действат по значително по-сложен начин [121]. lncRNA имат различни механизми за регулиране на генната експресия, включително епигенетична, транскрипционна и посттранскрипционна регулация [122]. Скорешни изследвания разкриват механизма на аксиално регулиране на силно експресирания lncRNA в остеоартрозната става [123]. От значение е взаимодействието на lncRNAs и miRNAs [124]. Чрез пространствена конформация вторичната структура на lncRNA, може да оказва адсорбционен ефект върху miRNA, да се промени контактната концентрация на miRNA и регулира производството на възпалителни гени или транскрипционни фактори в остеоартрозната става [125].

Понастоящем епигенетиката на ОА се фокусира предимно върху хондроцитите, но има и няколко публикации за епигенетичните въздействия върху субхондралната кост [126]. Чрез зонирания анализ на тибията Zhang предлага нова хипотеза, че субхондралните епигенетични промени имат по-голяма тежест пред тези в хрущяла в прогресията на остеоартрозата.

Поради диференцираната експресия на епигенетичните промени в различни ставни тъкани – хондроцити, субхондрална кост, синовиум, връзки и други ставни тъкани, могат да се получат противоречиви експериментални резултати. Хетерогенността на клетки и тъкани в ОА става може да компрометира точността на текущите познания за генната функция и епигенетичната регулация. За бъдещи подходи към епигенетиката при остеоартрозата би било по-рационално да се извършват рафинирани едноклетъчни изслед-

вания. Едноклетъчните изследвания биха осигурили по-прецизно подтипизиране на болестно засегнатите тъкани. В бъдеще тези техники могат да бъдат използвани в изследванията на ОА и това ще донесе нова гледна точка в разбирането на патогенезата ѝ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В патологичния процес на остеоартрозата множество епигенетични променливи могат да повлияят на експресията на гени, асоциирани с болестта [127]. Интегративното изследване на всички епигенетични механизми е от ключово значение за по-добра перспектива при търсенето на нови биомаркери и лечения. Някои от епигенетичните механизми са изследвани от десетилетия при други заболявания или като част от процеса на стареене. Потвърден е и фактът, че тези механизми регулират експресията на металопротеазите и целостта на хрущялната матрица. Сега знаем много повече за механизмите и регулирането на хроматина при ОА и за специфичната роля, която играят модификаторите на хроматина, както и за въздействието на хистоновите модификации върху фенотипа на хондроцитите. Аберантната генна експресия при стареене се регулира от различни епигенетични механизми и също играе важна роля в ПГ на артрозната болест. Хистоновите деацетилази отдавна се свързват със стареенето, особено семейството на сиртуините. Тъй като стареенето е един от рисковите фактори за ОА, изследванията за участието на сиртуините в етиологията на заболяването продължават. Като форма на не кодираща генетична информация епигенетиката играе различни регулаторни роли на молекулярно ниво в началото и в прогресията на заболяването [128]. Епигенетичните регулации предизвикват взаимосвързани и динамични промени в прогресията на заболяването. Свързаните с ОА сигнални пътища, транскрипционни фактори, възпалителни фактори, протеини на ЕСМ и други променливи са в различна степен чувствителни към епигенетичен контрол. Все още обаче са необходими допълнителни изследвания, за да се разберат напълно механизмите на епигенетична регулация на болестта и да могат да се използват в клиничната практика. Всички тези изследвания, както и комбинацията от генетични и епигенетични променливи допринасят за ново разбиране за патофизиологията на хрущялните заболявания [129].