

MikroRNA u pacientů s osteoporózou

Mačátová L., Kovaříková H., Palička V.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN Hradec Králové

SOUHRN

Osteoporóza je chronické systémové onemocnění skeletu, které ve svých nejzávažnějších komplikacích a důsledcích, může vést až k úmrtí pacienta. Pro správný fyziologický vývoj a metabolismus kostní tkáně je zapotřebí souhry mnoha faktorů. V posledních letech se do popředí zájmu dostávají mikroRNA, krátké nekódující molekuly RNA, jež hrají důležitou úlohu v posttranskripční regulaci genové exprese. Svým působením zasahují i do metabolismu kostní tkáně, a změny v jejich expresi se mohou podílet na různých patologických stavech, včetně osteoporózy. V poslední době stoupá počet publikací zaměřených na detekci konkrétních mikroRNA souvisejících s osteoporózou. Do budoucna by tyto molekuly mohly sloužit jako vhodné biomarkery či terapeutické cíle.

Klíčová slova: mikroRNA, osteoporóza, osteoklasty, osteoblasty.

SUMMARY

Mačátová L., Kovaříková H., Palička V.: MicroRNAs in osteoporotic patients

Osteoporosis is a chronic systemic skeletal disease that, at its most serious, cause death. For the proper physiological development of bone tissue, a combination of unnecessary factors is needed. In recent years, microRNAs have come to the forefront of interest. MicroRNAs are short non-coding RNA molecules that play an important role in posttranscriptional regulation of gene expression. They also affect bone metabolism, and alterations in their expression may be involved in variety of pathological conditions, including osteoporosis. Recently, there is an increasing number of publications focusing on the detection of specific microRNAs associated with osteoporosis. In the future, these molecules could serve as useful biomarkers or therapeutic targets.

Keywords: microRNAs, osteoporosis, osteoclasts, osteoblasts.

Úvod

Osteoporóza je systémové onemocnění skeletu, charakterizované snížením kostní hustoty a poruchou kostní mikroarchitektury, s následkem zvýšení fragility kostí [1]. Osteoporotické zlomeniny významně snižují kvalitu života [2], u starých lidí jsou závažnou příčinou morbidit a mortality [3]. Důležitou diagnostickou metodou je denzitometrické vyšetření (DXA), jehož výstupem je kostní minerální hustota (BMD). Dle Světové zdravotnické organizace je osteoporóza definována jako BMD menší či rovna $-2,5$ SD ve srovnání s průměrem mladých zdravých dospělých žen (WHO 1994). Avšak využití BMD jako klinického indikátoru osteoporózy je limitováno, protože BMD je pouze jedním z řady důležitých rizikových faktorů osteoporotické zlomeniny [3]. BMD v pásmu normy/osteopenie nevylučuje vznik patologické fraktury. Proto je důležitý individuální přístup k pacientovi s ohledem na další provedená vyšetření a rizikové faktory. Přínosem v pohledu na osteoporózu se zdá být výzkum v oblasti mikroRNA (miRNA). Tyto molekuly se v posledních letech dostávají do popředí zájmu ve všech oblastech medicíny. MiRNA hrají významnou úlohu v metabolismu kostní tkáně a změny v jejich expresi se mohou spolupodílet na různých patologických stavech, včetně osteoporózy.

Buňky kostní tkáně

Kost je tkáň metabolicky velmi aktivní, měnící se v průběhu celého života. Buňky zodpovědné za remo-

delaci kostní tkáně, osteocyty, osteoblasty a osteoklasty, reagují na aktuální podmínky, následkem čehož dochází k novotvorbě/odbourávání kosti. Nevyváženost mezi těmito procesy může mít za následek různé patologické stavy. U osteoporózy je to právě převaha osteoresorpce nad novotvorbou kostní tkáně.

Osteoklasty, zodpovědné za osteoresorpci, jsou velké mnohojaderné buňky, které se diferencují z monocyto-makrofágové řady. Osteoklastogeneze je regulována cytokiny a hormony přes několik transkripčních faktorů, které pozitivně či negativně modulují proliferaci, přežití, diferenciaci a funkci osteoklastů [4]. V tomto hraje zásadní roli systém osteoprotegerin/RANK/RANKL [5]. RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand), produkovaný osteoblasty, aktivuje osteoklastogenezi po navázání na RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B), který je exprimován na povrchu osteoklastů. Naproti tomu navázání RANKL na solubilní receptor osteoprotegerin vyžívání osteoklastů blokuje. Mezi další nezbytné faktory pro správný vývoj a funkčnost osteoklastů patří cytokin M-CSF (macrophage colony stimulating factor), transkripční faktor PU.1, TRAF 6 (TNF receptor-associated factor 6), proto-onkogen c-fos, NFkappaB (nuclear factor kappa B), NFAT (nuclear factor of activated T-cells), aj. M-CSF také zvyšuje expresi RANK v prekurzorech osteoklastů [6].

Osteoblasty, buňky kostní novotvorby, vznikají z pluripotentních mezenchymálních kmenových buněk (MSC). MSC jsou společným prekurzorem i pro adipocyty, chondrocyty a myocyty. Pro osteoblastogenezi

je důležitá signální cesta Wnt/ β -catenin, modulována transkripčními faktory RUNX2 (runt-related transcription factor 2) a Osterix [7]. Naopak inhibičně na Wnt-signální dráhu působí osteoklasty produkovaný sklerostin.

Jednotlivé transkripční faktory a metabolické dráhy mohou být ovlivněny různými miRNA. Dle cílové mRNA tak zasahují do proliferace osteoblastů anebo osteoklastů. Je pozoruhodné, že kompletní ztráta aktivity miRNA v prekurzorech osteoklastů zablokuje jejich dozrávání [8].

MikroRNA

MikroRNA jsou krátké nekódující molekuly RNA, které se podílejí na posttranskripční regulaci genové exprese. Inaktivací či degradací cílové mRNA negativně ovlivňují proteosyntézu a zasahují tedy do mnoha pochodů v organismu. Jak se ukazuje, změny v jejich expresi mohou mít za následek řadu chorobných stavů.

Biogeneze miRNA probíhá v několika krocích (obr.1). V jádře nejprve vzniká primární transkript (pri-miRNA), který je rozpoznán a zastřižen enzymem Drosha (ribonukleáza III) do 70 nt dlouhého prekurzoru miRNA (pre-miRNA) [9, 10]. Tato pre-miRNA je aktivně transportována z jádra do cytoplazmy pomocí exportního faktoru Exportinu 5/RanGTP [11]. V cytoplazmě pak enzym Dicer (ribonukleáza III) dává vznik zralé dvouvláknové miRNA (okolo 22 nt dlouhé) [11], miRNA-3p/miRNA-5p. Následně se jedno z vláken naváže k multiproteinovému komplexu RISC (RNA-induced silencing complex) a tento komplex pak cílí na 3' nepřekládané oblasti (UTR) příslušné mRNA [12].

MiRNA jsou v periferní krvi stabilní a snadno detekovatelné. Představují tedy potencionální biomarkery

různých chorob. U některých onemocnění se jeví i jako vhodné terapeutické cíle.

Možnost terapeutického využití spočívá v ovlivnění exprese příslušné miRNA jedním ze dvou způsobů: inhibicí či substitucí miRNA [13]. Zvýšením hladiny příslušné miRNA dochází k zastavení translace/degradaci cílové mRNA a naopak při snížení exprese miRNA nedochází k potlačení proteosyntézy. Jedním ze zástupců substituční terapie jsou miRNA mimics, dvouvláknové oligonukleotidy stejné sekvence jako endogenní miRNA [14]. Právě díky jejich shodné sekvenci s miRNA duplexem, vstupují do komplexu s RISC a ovlivňují cílovou mRNA [15]. Zástupci inhibiční terapie jsou antagonisté miRNA (anti-miR). Jedná se o jednořetězcové syntetické oligonukleotidy komplementární k příslušné miRNA. Blokují represí mRNA, navozenou miRNA, rozrušením komplexu miRISC [14]. Chemická modifikace těchto antagonistů zvyšuje jejich afinitu k cílové miRNA a zlepšuje jejich farmakokinetické vlastnosti, především je chrání před degradačním účinkem nukleáz (2-O-methylace, LNA – Lock Nucleic Acids, fosforothioatová vazba a další) [16].

MikroRNA v souvislosti s osteoporózou

Studii zaměřených na detekci miRNA u nemocných s osteoporózou stále přibývá. Přehled miRNA, jejichž exprese je deregulována u osteoporotických pacientů, je uveden v Tabulce 1. Současný výzkum klade důraz zejména na vyprofilování konkrétních miRNA, které by v budoucnu mohly sloužit jako biomarkery či terapeutické cíle.

Jedním z využitelných biomarkerů u osteoporoticky nemocných se zdá být miR-133a. Signifikantní změny v expresi miR-133a (upregulace) byly nalezeny v plaz-

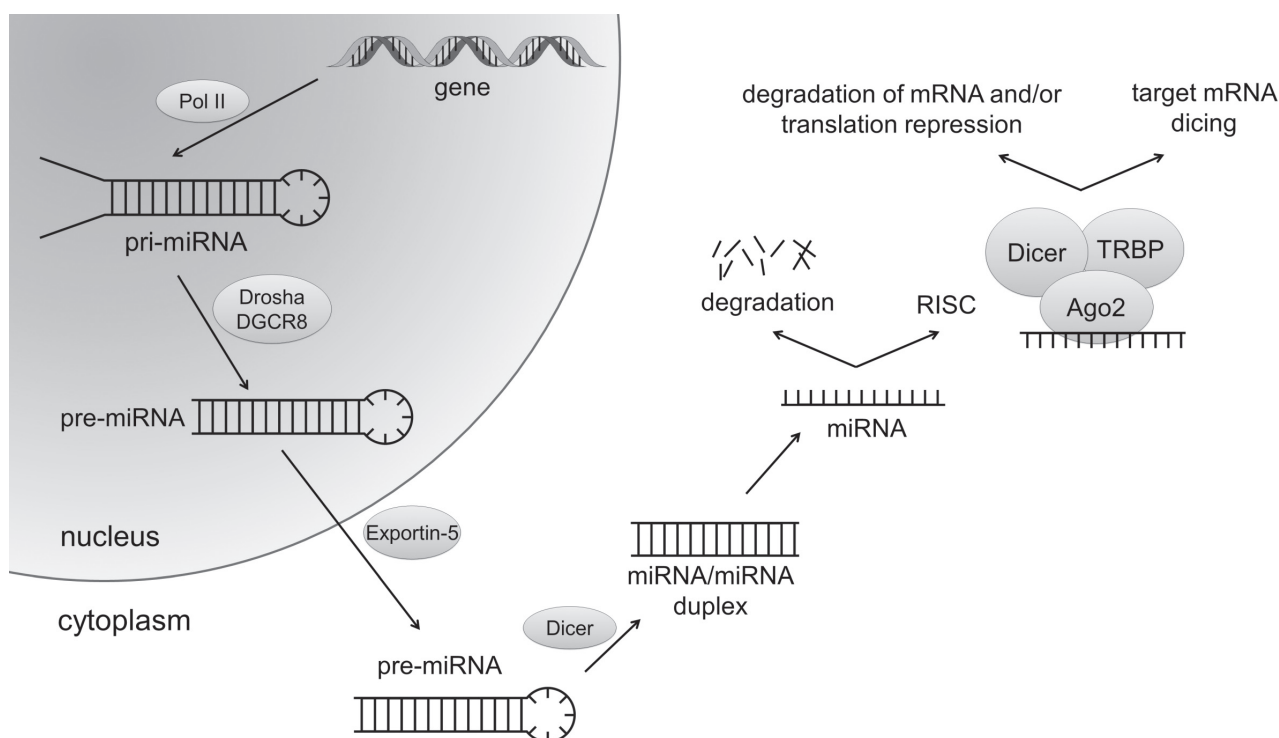


Fig. 1: MicroRNA biogenesis

mě a v séru postmenopauzálních žen s osteoporózou [17, 18]. Na souvislost miR-133a s nízkou kostní densitou poukázal již Wang a kol. [19] v roce 2012, kde vyšetřovaným materiálem byly cirkulující monocyty, izolované ze vzorku krve postmenopauzálních žen. In vitro experimenty ukázaly zvýšenou expresi miR-133a během osteoklastogeneze a indukci diferenciaci osteoklastů cestou RANKL [18] a zároveň negativní regulaci transkripčního faktoru RUNX2 [20].

Potencionálním biomarkerem by mohla být i miR-422, jež je také ve zvýšené míře exprimována v monocyttech postmenopauzálních žen s osteoporózou [21]. Byly objeveny čtyři možné cílové geny miR-422 (CBL, CD226, PAG1 a TOB2), které inhibují osteoklastogenezi [21] a jejichž exprese negativně korelovala s hladinou miR-422.

Další overexprimovanou miRNA v plazmě žen s nízkou kostní densitou je miR-148a [22, 23]. Cílem miR-148a je transkripční faktor MAFB (V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B), který negativně působí na RANKL indukovanou diferenciaci osteoklastů [24]. MiR-148a dále podporuje diferenciaci adipocytů z MSC [22]. Podání antagonistů miR148a myším po ovariectomii způsobilo nárůst kostní hmoty a pokles kostní resorpce [25].

Seelinger a kol. [23], kromě miR-148a, objevili v séru osteoporotických pacientů dalších osm upregulovaných miRNA (miR-21, miR-23a, miR-24, miR-93, miR-100, miR-122a, miR-124a, miR-125b). Vedle séra zkoumali i vzorky kostní tkáně pacientů s osteoporotic-

kou zlomeninou femuru. Celkem pět miRNA (miR-21, miR-23a, miR-24, miR-100 a miR-125b) mělo vyšší expresi jak v kostní tkáni, tak v séru. Upregulace miR-25 byla přítomna pouze ve vzorcích kostní tkáně.

Jednou z nejvíce zkoumaných miRNA, a to nejen v souvislosti s metabolismem kostní tkáně, je právě výše zmíněná miR-21. Kelch a kol. [26] ve své studii potvrzují upregulaci miR-21 v séru, kostní tkáni, osteoklastech i osteoblastech u osteoporoticky nemocných. Také v séru žen s osteoporotickou zlomeninou krčku femuru byla exprese miR-21 zvýšena [27]. Proti výše uvedeným výsledkům stojí studie Wang a kol. [17], kteří naopak poukazují na signifikantní pokles exprese miR-21 v plazmě postmenopauzálních žen s osteoporózou/osteopenií. Downregulace miR-21 byla také prokázána v séru žen s osteoporózou/osteopenií a zároveň prodělanou vertebrální frakturou [28]. In vitro miR-21 ovlivňuje osteoklastogenezi inhibicí PDCD4 proteinu (programmed cell death 4), čímž se zvýší exprese c-fos [29]. Zároveň miR-21 negativně působí na Fas-ligand [30], což je induktor apoptózy osteoklastů. Z výše uvedeného je tedy zřejmé, že miR-21 je významně spjata s osteoklastogenezí. Na druhou stranu byl prokázán pozitivní vliv miR-21 i na osteogenezi [31, 32]. Protichůdné výsledky byly nalezeny i u miR-23a [23, 28].

Redukovanou miRNA v cirkulujících monocyttech-progenitorech osteoklastů u postmenopauzálních žen s osteoporózou byla miRNA-503 [33]. Po podání antagonistů miR-503 myším po ovariectomii došlo ke

Table 1. Review of miRNA expression in patients with osteoporosis

MicroRNA	Material	Expression.	Targets	References
miR-21	serum/bone tissue/OC/OB plasma	↑ ↓	PDCD4, SPRY1	[23, 26, 29] [17, 41]
miR-23a	serum/bone tissue	↑	RUNX2	[23]
miR-24	serum/bone tissue	↑	RUNX2	[23]
miR-25	bone tissue	↑	----	[23]
miR-93	serum	↑	osterix	[23]
miR-96	serum	↑	osterix	[40]
miR-100	serum/bone tissue	↑	BMPR2	[23, 42]
miR-122a	serum serum	↑ ↓	---- RUNX2	[23] [39]
miR-124a	serum	↑	NFATC1	[23, 28]
miR-125b	serum/bone tissue	↑	osterix	[23, 43]
miR-133a	plasma/serum/monocytes	↑	CXCL11, CXCR3, ZIP1	[17–19]
miR-148a	serum	↑	MFAB	[22–24]
miR-194	serum	↑	----	[35]
miR-320a	bone tissue	↑	CTNNB1	[36]
miR-422	monocytes	↑	CBL, CD226, PAG1, TOB2	[21]
miR-483	bone tissue	↑	IGF2	[36]
miR-503	monocytes	↓	RANK	[33]
miR-1270	monocytes	↑	IRF8	[34]
miR-2861	serum	↑	HDAC5	[28]
miR-4516	serum	↓	RUNX2	[39]

OC-osteoclasts, OB-osteoblasts, ↑upregulation, ↓downregulation

zvýšené osteoklastogenezi. Cílovými místy miR-503 jsou RANK, jeho vazba na RANKL a následně zvýšená osteoklastogeneze. [33].

Yavropoulou a kol. [28] prokázali, kromě již výše zmíněné downregulace miR-21 u žen s vertebrální frakturou, vysoké sérové hladiny miR-124 a miR-2861 u postmenopauzálních žen s nízkou kostní denzitou. MiR-2861 působí inhibičně na osteogenezi cestou RUNX2.

K dalším popsáným miRNA s odlišnou expresí u nemocných s nízkou kostní denzitou patří miR-96, miRNA-1270, miR-194, miR-320a, miR-483, miR-140, miR-4516 [34–40].

MikroRNA a terapie osteoporózy

Vzhledem k jistě významné roli miRNA v kostním metabolismu se dá předpokládat, že antiosteoporotická terapie bude měnit jejich expresi. Dostupná je studie Anastasilakise a kol. [44] s teriparatidem a denosumabem. Denosumab je monoklonální protilátka proti RANKL, tedy zástupce anti-resorpční terapie. Teriparatid naproti tomu má efekt osteoanabolický. V souvislosti s rozdílným mechanismem účinku těchto dvou léků je prokazatelná i rozdílná exprese miRNA. U pacientů léčených teriparatidem byla snížena miR-33 (po třech měsících léčby) a miR-133 (po 12 měsících léčby). Naproti tomu u skupiny léčené denosumabem nebyly významné změny v testovaných miRNA.

Je známo, že přerušení léčby denosumabem může vést ke zvýšení rizika sériových zlomenin obratlových těl. Ve své další studii Anastasilakis a kol. [45] zjistili významné snížení již výše zmiňované miR-503 a miR-222-2 v séru žen, které prodělaly vertebrální zlomeninu 8–16 měsíců po vysazení denosumabu. V séru těchto žen byly dále detekovány zvýšené hladiny markerů kostního obratu (CTX a P1NP).

Závěr

Z výše uvedeného je zřejmé, že miRNA jsou pro fyziologický vývoj a metabolismus kostní tkáně velice důležitými regulátory. Změny v jejich expresi se podílejí na vzniku různých chorob, včetně osteoporózy. Důležitá je jejich stabilita a snadná dostupnost z periferní krve. Bylo detekováno mnoho miRNA v souvislosti s osteoporózou a publikací na toto téma stále přibývá. I když jsou některé výsledky protichůdné a nálezy různorodé, do budoucna se jistě vyprofilují miRNA, které budou běžně využitelné jako biomarkery případně terapeutické cíle. Vzhledem k omezenému množství antiosteoporotických léků by byla další možností terapie jistě výhodou.

Literatura

1. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.*, 1993, 94/6, p. 646–650.

2. **Borgström, F., Zethraeus, N., Johnell, O. et al.** Costs and quality of life associated with osteoporosis-related fractures in Sweden. *Osteoporos. Int.*, 2006, 17/5, p. 637–650.
3. **Compston, J. E., McClung, M. R., Leslie, W. D.** Osteoporosis. *Lancet*, 2019, 393/10169, p. 364–376.
4. **Del Fattore, A., Teti, A., Rucci, N.** Osteoclast receptors and signaling. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2008, 473/2, p. 147–160.
5. **Khosla, S.** Minireview: The OPG/RANKL/RANK System. *Endocrinology*, 2001, 142/12, p. 5050–5055.
6. **Arai, F., Miyamoto, T., Ohneda, O. et al.** Commitment and Differentiation of Osteoclast Precursor Cells by the Sequential Expression of C-Fms and Receptor Activator of Nuclear Factor κ B (RANK) Receptors. *J. Exp. Med.*, 1999, 190/12, p. 1741–1754.
7. **Hill, T. P., Später, D., Taketo, M. M. et al.** Canonical Wnt/ β -Catenin Signaling Prevents Osteoblasts from Differentiating into Chondrocytes. *Develop. Cell*, 2005, 8/5, p. 727–738.
8. **Gennari, L., Bianciardi, S., Merlotti, D.** MicroRNAs in bone diseases. *Osteoporos. Int.*, 2017, 28/4, p. 1191–1213.
9. **Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T. et al.** MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J*, 2002, 21/17, p. 4663–4670.
10. **Lee, Y., Ahn, C., Han, J. et al.** The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425/6956, p. 415.
11. **Lund, E., Dahlberg, J. E.** Substrate Selectivity of Exportin 5 and Dicer in the Biogenesis of MicroRNAs, 2006, 71, p. 59–66.
12. **Bartel, D. P.** MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*, 2009, 136/2, p. 215–233.
13. **Parsons, C., Adams, B., Walker, L. et al.** Targeting Noncoding RNAs in Disease. *J. Clin. Invest.*, 2017, 127, p. 761–771.
14. **Peng, B., Chen, Y., Leong, K. W.** MicroRNA delivery for regenerative medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2015, 88, p. 108–122.
15. **Muthiah, M., Park, I. K., Cho, C. S.** Nanoparticle-mediated delivery of therapeutic genes: focus on miRNA therapeutics. *Exp. Opin. Drug Deliv.*, 2013, 10/9, p. 1259–1273.
16. **Slabý, O.** MikroRNA vstupují do klinického testování. *Časopis Klinická onkologie*, 2012, 25/2, p. 139–142.
17. **Li, H., Wang, Z., Fu, Q. et al.** Plasma miRNA levels correlate with sensitivity to bone mineral density in postmenopausal osteoporosis patients. *Biomarkers*, 2014, 19/7, p. 553–556.
18. **Li, Z., Zhang, W., Huang, Y.** MiRNA-133a is involved in the regulation of postmenopausal osteoporosis through promoting osteoclast differentiation. *Act. Biochim. Biophys. Sinica*, 2018, 50/3, p. 273–280.
19. **Wang, Y., Li, L., Moore, B. T. et al.** MiR-133a in Human Circulating Monocytes: A Potential Biomarker Associated with Postmenopausal Osteoporosis. *PLoS ONE*, 2012, 7/4, e34641.
20. **Li, Z., Hassan, M. Q., Volinia, S. et al.** A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105/37, p. 13906–13911.
21. **Cao, Z., Moore, B. T., Wang, Y. et al.** MiR-422a as a Potential Cellular MicroRNA Biomarker for Postmenopausal Osteoporosis. *PLoS ONE*, 2014, 9/5, e97098.
22. **Bedene, A., Mencej Bedrač, S., Ješe, L. et al.** MiR-148a the epigenetic regulator of bone homeostasis is

- increased in plasma of osteoporotic postmenopausal women. *Wiener klinische Wochenschrift*, 2016, 128/7, p. 519–526.
23. **Seeliger, C., Karpinski, K., Haug, A. T. et al.** Five Freely Circulating miRNAs and Bone Tissue miRNAs Are Associated With Osteoporotic Fractures. *J Bone Mineral Res.*, 2014, 29/8, p. 1718–1728.
 24. **Kim, K., Kim, J. H., Lee, J. et al.** MafB negatively regulates RANKL-mediated osteoclast differentiation. *Blood*, 2007, 109/8, p. 3253–3259.
 25. **Cheng, P., Chen, C., He, H. B. et al.** MiR-148a regulates osteoclastogenesis by targeting V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B. *J Bone Mineral Res.*, 2013, 28/5, p. 1180–1190.
 26. **Kelch, S., Balmayor, E. R., Seeliger, C. et al.** MiRNAs in bone tissue correlate to bone mineral density and circulating miRNAs are gender independent in osteoporotic patients. *Sci. Reports*, 2017, 7/1, 15861.
 27. **Panach, L., Mifsut, D., Tarín, J. J. et al.** Serum Circulating MicroRNAs as Biomarkers of Osteoporotic Fracture. *Calc. Tiss. Int.*, 2015, 97/5, p. 495–505.
 28. **Yavropoulou, M. P., Anastasilakis, A. D., Makras, P. et al.** Expression of microRNAs that regulate bone turnover in the serum of postmenopausal women with low bone mass and vertebral fractures. *Eur. J Endocrinol.*, 2017, 176/2, p. 169–176.
 29. **Sugatani, T., Vacher, J., Hruska, K. A.** A microRNA expression signature of osteoclastogenesis. *Blood*, 2011, 117/13, p. 3648–3657.
 30. **Sugatani, T., Hruska, K. A.** Down-Regulation of miR-21 Biogenesis by Estrogen Action Contributes to Osteoclastic Apoptosis. *J cell. Biochem.*, 2013, 114/6, p. 1217–1222.
 31. **Mei, Y., Bian, C., Li, J. et al.** MiR-21 modulates the ERK-MAPK signaling pathway by regulating SPRY2 expression during human mesenchymal stem cell differentiation. *J cell. Biochem.*, 2013, 114/6, p. 1374–1384.
 32. **Meng, Y. B., Li, X., Li, Z. Y. et al.** MicroRNA-21 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by the PI3K/β-catenin pathway. *J Orthopaed. Res.*, 2015, 33/7, p. 957–964.
 33. **Chen, C., Cheng, P., Xie, H. et al.** MiR-503 Regulates Osteoclastogenesis via Targeting RANK. *J Bone Mineral Res.*, 2014, 29/2, p. 338–347.
 34. **Jiménez-Ortega, R. F., Ramírez-Salazar, E. G., Parra-Torres, A. Y. et al.** Identification of microRNAs in human circulating monocytes of postmenopausal osteoporotic Mexican-Mestizo women: A pilot study. *Exp. Therapeut. Med.*, 2017, 14/6, p. 5464–5472.
 35. **Meng, J., Zhang, D., Pan, N. et al.** Identification of miR-194-5p as a potential biomarker for postmenopausal osteoporosis. *PeerJ*, 2015, 3, e971.
 36. **De-Ugarte, L., Yoskovitz, G., Balcells, S. et al.** MiRNA profiling of whole trabecular bone: identification of osteoporosis-related changes in MiRNAs in human hip bones. *BMC Med. Genom.*, 2015, 8, ID 75.
 37. **Kong, Y., Nie, Z. K., Li, F. et al.** MiR-320a was highly expressed in postmenopausal osteoporosis and acts as a negative regulator in MC3T3E1 cells by reducing MAP9 and inhibiting PI3K/AKT signaling pathway. *Exp. Mol. Pathol.*, 2019, 110, p. 104282.
 38. **Ramírez-Salazar E. G., Carrillo-Patiño S., Hidalgo-Bravo, A. et al.** Serum miRNAs miR-140-3p and miR-23b-3p as potential biomarkers for osteoporosis and osteoporotic fracture in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Gene*, 2018, 679, p. 19–27.
 39. **Mandourah, A. Y., Ranganath, L., Barraclough, R. et al.** Circulating microRNAs as potential diagnostic biomarkers for osteoporosis. *Sci. Rep.*, 2018, 8, p. 3609.
 40. **Liu, H., Liu, Q., Wu, X. P. et al.** MiR-96 regulates bone metabolism by targeting osterix. *Clin. Exp. Pharmacol. Phys.*, 2018, 45/6, p. 602–613.
 41. **Yang, N., Wang, G., Hu, C. et al.** Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis. *J Bone Mineral Res.*, 2013, 28/3, p. 559–573.
 42. **Zeng, Y., Qu, X., Li, H. et al.** MicroRNA-100 regulates osteogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells by targeting BMP2. *FEBS Letters*, 2012, 586/16, p. 2375–2381.
 43. **Chen, S., Yang, L., Jie, Q. et al.** MicroRNA-125b suppresses the proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Mol. Med. Rep.*, 2014, 9/5, p. 1820–1826.
 44. **Anastasilakis, A. D., Makras, P., Pikilidou, M. et al.** Changes of Circulating MicroRNAs in Response to Treatment With Teriparatide or Denosumab in Postmenopausal Osteoporosis. *J Clin. Endocrinol. Metabol.*, 2018, 103/3, p. 1206–1213.
 45. **Anastasilakis, A. D., Yavropoulou, M. P., Makras, P. et al.** Increased osteoclastogenesis in patients with vertebral fractures following discontinuation of denosumab treatment. *Eur. J Endocrinol.*, 2017, 176/6, p. 677–683.
- Autoři nejsou ve střetu zájmů.
- Tato práce vznikla za podpory programu MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) a grantu SVV 260 398/2017.
- Do redakce došlo 9. 4. 2020

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Libuše Mačátová
Ústav klinické biochemie a diagnostiky
LF a FN Hradec Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
Tel.: 603 922 103
e-mail: libuse.macatova@fnhk.cz