

# МИКРОРИБОНУКЛЕИНОВИ КИСЕЛИНИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХОББ

**Е. Меков, Я. Славова, Д. Костадинов, Д. Маринова**

СБАЛББ „Св. София“ ЕАД, гр. София

## **Резюме**

Микрорибонуклеиновите киселини (миРНКи) са малки РНК молекули (дължина 21-25 нуклеотида), които осъществяват посттранскрипционна отрицателна обратна връзка върху генната експресия чрез разграждане на матричната РНК (мРНК) и/или инхибиране на протеиновата трансляция. Нарушената регулация на миРНК може да има обширни ефекти върху генната и протеинната експресия, засягайки множество биологични процеси.

Сред механизмите за възникване на ХОББ, освен генетични и фактори на средата, роля играят и епигенетични фактори като патологична експресия на миРНК. Основна патофизиологична характеристика на ХОББ е нарушена регулация във възпалителния отговор, който се осъществява чрез възпалителни протеини, регулирани от миРНК. Нарушената експресия на миРНК при пациенти с ХОББ е свързана и с мускулна дисфункция и повишена честота на туморни процеси. В тази статия е разгледано специфичното действие на отделни миРНКи с нарушена експресия при ХОББ.

**Ключови думи:** миРНК, ХОББ, патогенеза

# MICRORIBONUCLEIC ACIDS IN PATIENTS WITH COPD

**E. Mekov, Y. Slavova, D. Kostadinov, D. Marinova**

SHATPD "St. Sofia", Sofia, Bulgaria

## **Abstract**

Microribonucleic acids (miRNAs) are small RNA molecules (21-25 nucleotides in length) that perform posttranscriptional negative feedback on gene expression by cleavage of messenger RNA (mRNA) and/or by inhibition of protein translation. Dysregulation of the miRNA may have large effects on gene and protein expression, affecting many biological processes.

Among the mechanisms of occurrence of COPD, in addition to genetic and environmental factors, epigenetic factors play role, one of which is pathological expression of miRNA. Main pathophysiological characteristic of COPD is impairment in the inflammatory response which is accomplished by inflammatory proteins regulated by miRNA. Altered expression of the miRNA in COPD patients is also associated with muscle dysfunction and increased incidence of tumor processes. This article reviews the specific function of individual miRNAs with impaired expression in COPD.

**Keywords:** miRNA, COPD, pathogenesis

**Въведение**

Гените, кодиращи протеини, са под 2% от човешкия геном (11), докато голяма част се транскрибира в некодиращи рибонуклеинови киселини (нкРНКи), които включват микроРНКи (миРНКи) и дълги некодиращи РНКи (днРНКи). МиРНКи-те са малки РНК молекули (дължина 21-25 нуклеотида), които осъществяват посттранскрипционна отрицателна обратна връзка върху генната експресия чрез разграждане на матричната РНК (мРНК) и/или инхибиране на протеиновата трансляция (37). Те оказват и индиректно влияние чрез метилиране или специфично действие върху транскрипционни фактори (17, 42). Като изключение от правилото, в някои случаи те водят до усилване на генната трансляция (63). МиРНКи-те регулират около 60% от гените, кодиращи протеини (18) и влияят върху клетъчната пролиферация, диференциация, и апоптоза (5, 19, 35). Тяхната роля в отговора към увреждане и адаптацията към хроничен стрес се проучва.

**Регулация на миРНК**

Съществуват три нива на регулация върху експресията на миРНК: на ниво транскрипция, на ниво зреене и на ниво вътреклетъчна локализация. Регулация на ниво транскрипция включва промяна на експресията на миРНК чрез транскрипционни фактори под влияние на възпалителни стимули и клетъчен стрес. Контролът на ниво зреене се осъществява чрез инхибиране на DICER – РНК ендонуклеаза, свързана със зреенето на миРНК (21, 65) или посттранскрипционни промени (57), а регулацията на ниво вътреклетъчна локализация – чрез локализация на миРНК в стресовите гранули и р-телца. Промяна в експресията на миРНК може да е резултат и от единичен нуклеотиден полиморфизъм (SNP) (59).

Поради относителното изобилие на комплементарни последователности между миРНК и тяхната мишена мРНК, една миРНК може да влияе едновременно върху няколко гена. Промяна в генната експресия на една клетъчна линия обаче може да не е валидна за друга. Това подкрепя доказателствата за клетъчно-специфична миРНК роля в различни патогенетични процеси и регулация на миРНК по няколко механизма.

Като резултат, нарушената регулация на миРНК може да има обширни ефекти върху генната и протеинната експресия, засягайки множество биологични процеси.

**миРНК като биомаркер**

МиРНК е стабилна в биологични течности (кръв, серум, плазма, урина, цереброспинална течност, слюнка, храчка и БАЛ) и може да бъде изследвана лесно, а резултатите – възпроизводими (64). В допълнение, изследване на издишан въздух също може да се използва за установяване на различна експресия на

**Introduction**

The genes encoding proteins are less than 2% of the human genome (11), while a large part is transcribed into non-coding ribonucleic acids (ncRNAs) including microRNAs (miRNA) and a long non-coding RNAs (lncRNAs). MiRNAs are small RNA molecules (21-25 nucleotides in length) that perform posttranscriptional negative feedback on gene expression by cleavage of messenger RNA (mRNA) and/or by inhibition of protein translation (37). They also have an indirect effect by methylation or by specific effect on transcription factors (17, 42). As an exception, in some cases they lead to amplification of gene translation (63). MiRNAs regulate about 60% of the genes encoding the proteins (18) and influence cellular proliferation, differentiation and apoptosis (5, 19, 35). Their role in the response to injury and adaptation to chronic stress is under study.

**Regulation of miRNA**

There are three levels of regulation of miRNA's expression: at transcription level, at splicing level and at intracellular localization level. Regulation at transcription level involves changing the expression of miRNA by transcription factors under the influence of inflammatory stimuli and cellular stress. Regulation at splicing level is carried out through inhibition of DICER – RNA endonuclease associated with splicing of miRNAs (21, 65) or post-transcriptional changes (57), and the intracellular localization regulation – by localization of miRNA in stress granules and p-bodies. Changing in expression of miRNA may be the result of a single nucleotide polymorphism (SNP) (59).

Because of the relative abundance of complementary sequences between miRNA and its target mRNA, one miRNA can influence simultaneously several genes. Changes in gene expression of one cell line, however, may not be valid for the other. This supports the evidence of cell-specific miRNA role in different pathogenetic processes and regulation of miRNA by several mechanisms.

As a result, dysregulation of the miRNA can have large effects on the gene and protein expression, affecting many biological processes.

**miRNA as a biomarker**

MiRNA is stable in biological fluids (blood, serum, plasma, urine, cerebrospinal fluid, saliva, sputum and BAL) and can be easily assessed with reproducible results (64). In addition, examination of the exhaled breath may also be used to detect different expression of miRNA (48). This makes it an excellent candidate for a biomarker

миРНК (48). Това я прави отличен кандидат за биомаркер при ХОББ.

### **миРНК експресия и тютюнопушене**

Повечето проучвания показват намаляване експресията на миРНК в отговор на контакт с тютюнев дим (54). То е по-изразено при тежки пушачи, което показва връзка между броят на засегнатите миРНК и пакетогодините (20). Освен това миРНК могат да служат като маркер за развитие на ХОББ при тежки пушачи (66).

Цигареният дим е най-силния рисков фактор за развитие на ХОББ. Не е напълно ясно по какъв механизъм цигареният дим нарушава регулацията на миРНК. Най-вероятно това е свързано с високата токсичност и мутагенния потенциал, тъй като съдържащите се в него радикали могат да взаимодействат с ДНК *in vitro* (9). Освен директната увреда на миРНК, нарушаване на регулаторните механизми също представлява възможен механизъм.

Протеините имат полуживот от няколко часа до няколко седмици (55), но промяната в генната експресия в бронхиален епител при бивши пушачи персистира години след прекратяване на тютюнопушенето, показвайки трайна промяна в следствие на контакт с тютюневия дим (56). Индуцираните от цигарен дим промени в експресията на миРНК са необратими при достигането на определена граница на продължителност и интензивност на тютюнопушенето (33).

### **миРНК и ХОББ**

Установена е различна експресия на 70 миРНК в бял дроб на пациенти с ХОББ в сравнение с пушачи без ХОББ (16). Интересен факт е наличието на по-голямо сходство в експресията на миРНК на пациенти с ХОББ с пациенти с белодробен карцином в сравнение със здрави контроли (36).

Патологичната експресия на миРНК-те играе роля в патогенезата на много заболявания, включително белодробни заболявания като ХОББ (61), като се наблюдава определен експресионен профил.

Механизмите за възникване на ХОББ не са напълно изяснени. ХОББ е хронично заболяване, върху което оказват влияние комбинация от генетични, епигенетични и фактори от околната среда (23). Основна негова патофизиологична характеристика е нарушена регулация във възпалителния отговор. Последният се контролира от възпалителни протеини, които се освобождават при контакт с тютюнев дим. Проинфламаторни транскрипционни фактори като нуклеарен фактор  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) регулират експресията на възпалителните протеини. Усилването на този възпалителен отговор при контакт с цигарен дим може да доведе до развитието на ХОББ.

По-долу е разгледано специфичното действие на отделните миРНК при ХОББ.

in COPD.

### **miRNA expression and smoking**

Most studies show a decrease in the expression of miRNA in response to contact with tobacco smoke (54). It is more pronounced in heavy smokers, which shows a relationship between the number of affected miRNAs and the pack-years (20). Furthermore, miRNA could be used as a marker for the development of COPD in heavy smokers (66).

Cigarette smoke is the strongest risk factor for development of COPD. It is not entirely clear by what mechanism cigarette smoke impairs the regulation of miRNA. Most likely this is associated with high toxicity and mutagenic potential, as it contains radicals which can interact with DNA *in vitro* (9). Besides direct damage of miRNA, violation of its regulatory mechanisms is also a possible mechanism.

The proteins have a half-life of several hours to several weeks (55), but the change in gene expression in the bronchial epithelium in former smokers persist years after the cessation of smoking, showing a permanent change as a result of contact with tobacco smoke (56). Cigarette smoke-induced changes in the expression of miRNA are irreversible when reaching a certain threshold on the duration and intensity of smoking (33).

### **miRNA and COPD**

Different expression of 70 miRNAs is reported in lungs of COPD patients compared to smokers without COPD (16). An interesting fact is a greater similarity in the expression of the miRNAs of COPD patients with lung cancer patients compared to healthy controls (36).

Pathological expression of miRNAs plays a role in the pathogenesis of many diseases, including pulmonary diseases like COPD (61), with observation of characteristic expression profile.

Mechanisms for the occurrence of COPD are not fully understood. COPD is a chronic disease, which is influenced by a combination of genetic, epigenetic and environmental factors (23). Its main pathophysiological feature is impaired regulation of the inflammatory response. The latter is controlled by inflammatory proteins that are released in contact with tobacco smoke. Proinflammatory transcription factors such as nuclear factor  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) regulate the expression of inflammatory proteins. The amplification of this inflammatory response in contact with cigarette smoke can lead to the development of COPD.

The specific function of the individual miRNAs in COPD is reviewed below.

**miR-1**

miR-1 има основна роля в развитието и нормалното функциониране на **мускулната тъкан**. Освен това тя играе и важна роля при сърдечни заболявания – хипертрофия, миокарден инфаркт, аритмии. Серумните нива на miR-1 са значително *по-високи* при пациенти с ХОББ в сравнение с контролна група – 2.5 пъти, което предполага ускорено разграждане на мускулна тъкан (14). Освен това miR-1 показва негативна корелация с ФЕО1 ( $r=-0.3$ ), TLco ( $r=-0.3$ ) и FFMI (fat-free mass index) ( $r=-0.21$ ).

**miR-15b**

*Повишена* експресия на miR-15b се наблюдава в бронхиален епител и алвеоларна стена (тип 2 пневмоцити) при пациенти с ХОББ (16). miR-15b регулира SMAD7 чрез отрицателна обратна връзка (68), и увеличава ранното фосфорилиране на SMAD3 (16). SMAD7, който е понижен при пациенти с ХОББ, инхибира функцията на TGF- $\beta$  и се асоциира с развитието на **туморни процеси** (16).

**miR-34c, miR-34b и miR-34a**

Експресията на miR-34c корелира *обратнопропорционално* с **тежестта на емфизема** (53). Значимо *намаление* на miR-34c се наблюдава в храчка при пушачи и пациенти с ХОББ в сравнение с непушачи (1, 61).

Овен това тя подтиска **възникването на тумори** и е с намалена експресия при много карциноми, включително и при белодробен карцином (38). Синтетичният миметик на miR-34 (MRX34), чиято цел е да възстанови функцията на последната при карцином, е първия миРНК миметик, който достига фаза I на клинични проучвания (3).

miR-34b има сходен произход и функция с miR-34c, а експресията му също е *намалена* в храчка на пушачи с или без ХОББ в сравнение с непушачи (61).

Експресията на miR-34a е *увеличена* в белодробна тъкан на пациенти с ХОББ, но не показва зависимост с броя на пакетогодините или с наличието на белодробен карцином (43). От своя страна тя може да увеличи експресията на miR-199a-5p чрез инактивация на протеинкиназата AKT, а регулация се осъществява чрез положителна обратна връзка от протеин p53.

**miR-101**

Установена е *повишена* експресия на miR-101 в бял дроб на пациенти с ХОББ (25). miR-101 влияе върху митоген-активираната протеинкиназа (МАРК) фосфатаза 1 (МПК-1), която е инхибитор на МАРК (69). Увеличената експресия на тази миРНК намалява дефосфорилирането на извънклетъчната сигнал-регулирана киназа (ERK) 1/2. Това може да удължи действието на ERK 1/2, наблюдавано при пациенти с ХОББ (40), което усилва и експресията на матриксната металопротеиназа-1 (MMP-1) при пушачи с емфизем (41).

**miR-1**

miR-1 plays a key role in the development and proper functioning of **muscle tissue**. It also plays an important role in heart diseases – hypertrophy, myocardial infarction, arrhythmias. Serum levels of miR-1 were significantly *higher* in patients with COPD compared to the control group – 2.5 times, suggesting accelerated breakdown of muscle tissue (14). Moreover, miR-1 shows a negative correlation with FEV1 ( $r=-0.3$ ), TLco ( $r=-0.3$ ) and FFMI (fat-free mass index) ( $r=-0.21$ ).

**miR-15b**

*Increased* expression of miR-15b was observed in the bronchial epithelium and alveolar wall (type 2 pneumocytes) in COPD patients (16). miR-15b regulates SMAD7 by negative feedback (68) and increases the early phosphorylation of SMAD3 (16). SMAD7, which is decreased in patients with COPD, inhibits the function of TGF- $\beta$  and is associated with development of **tumor processes** (16).

**miR-34c, miR-34b and miR-34a**

The expression of miR-34c correlates *inversely* with the severity of **emphysema** (53). Significant *reduction* of miR-34c in sputum is observed in smokers and COPD patients compared to non-smokers (1, 61).

Besides, it suppresses the **occurrence of tumors** and has a reduced expression in many cancers, including in lung cancer (38). The synthetic mimetic of miR-34 (MRX34), whose goal is to restore function of the latter in cancer is the first miRNA mimetic that reached phase I clinical trials (3).

MiR-34b has a similar origin and function with miR-34c and its expression was also *reduced* in sputum of smokers with and without COPD compared to nonsmokers (61).

The expression of miR-34a is *increased* in lung tissue of patients with COPD, but shows no correlation with the number of pack-years or with the presence of lung cancer (43). In turn, it can increase the expression of miR-199a-5p by inactivation of the protein kinase AKT and its regulation is made by positive feedback from protein p53.

**miR-101**

An *increased* expression of miR-101 is observed in lungs of COPD patients (25). MiR-101 affects the mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphatase 1 (MPK-1) which is an inhibitor of MAPK (69). Increased expression of this miRNA reduces the dephosphorylation of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2. This can prolong the ERK 1/2 function, observed in patients with COPD (40), which also amplifies the expression of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) in smokers with **emphysema** (41).

miR-101 подтиска CFTR (трансмембранен регулатор на кистичната фиброза), който поддържа **хомеостазата на течности** в белия дроб и е намален при настоящи и бивши пушачи с ХОББ (24). Цигареният дим и кадмият стимулират експресията на miR-101 (25) и така могат да подтискат CFTR, нарушавайки функцията му.

#### miR-133

Серумните нива на miR-133 са значително *по-високи* при пациенти с ХОББ в сравнение с контроли (14). miR-133 участва в **системното възпаление** при ХОББ, като нивата му корелират с ядрения NFκB p50. Тази връзка е налице при пациентите в стадий I и II по GOLD ( $r=0.47$ ) и липсва при пациентите в стадий III и IV по GOLD, където се наблюдава зависимост с IL-2 и IL-5 (14).

#### miR-135b

Тютюневият дим *увеличава* белодробната експресия на miR-135b, като това увеличение зависи от IL-1α и IL-1 рецептор 1 (IL-1R1) (22).

miR-135b регулира IL-1R1 и каспаза-1 (22). Активираната каспаза-1 увеличава производството на IL-1β (13), който съвместно с IL-1α активират IL-1R1. miR-135b осъществява отрицателна обратна връзка чрез свързване с IL-1R1 и каспаза-1 с цел намаляване на усилението **възпалителен отговор** и спиране прогресията на възпалението. В подкрепа на това е описана усилена експресия на IL-1β в ранната фаза при контакт с тютюнев дим (15), но не и при персистиращ контакт (10).

#### miR-144

Експресията на miR-144 е *увеличена* при пациенти с ХОББ в сравнение със здрави пушачи (16). miR-144 участва в регулацията на CFTR. Цигареният дим и кадмият стимулират експресията на miR-144, подобно на miR-101 (25) и така могат да подтискат CFTR при ХОББ, нарушавайки **хомеостазата на течностите**.

#### miR-146a

Експресията на miR-146a е *намалена* в храчка на пациенти с ХОББ в сравнение както с непушачи, така и с пушачи (61). *Повишена* експресия обаче се наблюдава в белия дроб на пациенти с ХОББ в сравнение с пушачи (16).

miR-146a участва в **регулацията на възпалението и вродения имунитет** чрез отрицателна обратна връзка. Намалената експресия на miR-146a увеличава количеството на протеина циклооксигеназа-2 (COX-2) (52). COX-2 е ключов ензим в биосинтезата на простагландин Е2 (PGE2), който способства за неутрофилното привличане (50). В допълнение, PGE2 инхибира възстановителната функция на белодробните фибробласти (30) и е увеличен в белите дробове и във фибробласти при пациенти с ХОББ (45, 52) като корелира с тежестта на заболяването (52). Увеличената COX-2 експресия е характерна за хронично възпаление при свързани с тютюнопушенето болести като ХОББ и белодробен карцином (39, 46). IL-1β и

miR-101 inhibits CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), which maintains **homeostasis of fluids** in the lungs and is decreased in current and former smokers with COPD (24). Cigarette smoke and cadmium stimulate the expression of miR-101 (25) and can inhibit CFTR, impairing his function.

#### miR-133

Serum levels of miR-133 were significantly *higher* in patients with COPD compared to controls (14). miR-133 is involved in **systemic inflammation** in COPD as its levels correlate with nuclear NFκB p50. This relationship is present in patients with GOLD stage I and II ( $r=0.47$ ) and is absent in patients with GOLD stage III and IV, where there is a correlation with IL-2 and IL-5 (14).

#### miR-135b

Tobacco smoke *increases* lung expression of miR-135b which is dependent of IL-1α and IL-1 receptor 1 (IL-1R1) (22).

miR-135b regulates IL-1R1 and caspase-1 (22). The activated caspase-1 increases the production of IL-1β (13), which together with IL-1α activate IL-1R1. miR-135b performs negative feedback by binding to IL-1R1 and caspase-1 in order to reduce the amplified **inflammatory response** and stopping the progression of inflammation. In support of this, enhanced expression of IL-1β in the early phase in contact with tobacco smoke is described (15), but not in chronic exposure (10).

#### miR-144

The expression of miR-144 is *increased* in patients with COPD compared to healthy smokers (16). miR-144 takes part in the regulation of CFTR. Cigarette smoke and cadmium stimulate the expression of miR-144, similarly to miR-101 (25) and thus can inhibit CFTR in COPD, impairing **fluid homeostasis**.

#### miR-146a

The expression of miR-146a is *reduced* in sputum of COPD patients compared to both non-smokers and smokers (61). However, *increased* expression was observed in the lungs of patients with COPD compared to smokers (16).

miR-146a is involved in the **regulation of inflammation and innate immunity** by negative feedback. The reduced expression of miR-146a increases the amount of the protein cyclooxygenase-2 (COX-2) (52). COX-2 is a key enzyme in the biosynthesis of prostaglandin E2 (PGE2), which contribute to neutrophil attraction (50). In addition, PGE2 inhibits the repair function of the lung fibroblasts (30) and is increased in the lungs and in fibroblasts in patients with COPD (45, 52) with correlation with the disease severity (52). Increased COX-2 expression is characteristic of chronic inflammation in smoking-related diseases such as COPD and lung cancer (39, 46). IL-1β and TNFα induce NF-κB and the expression of miR-146a, but with

TNF $\alpha$  индуцират NF-kB и експресията на miR-146a, но със значително по-слаб ефект при пациенти с ХОББ в сравнение със здрави контроли (52).

#### miR-199a-5p

MiR-199a-5p е със значително *намалена* експресия в Т-регулаторни клетки при пациенти с ХОББ в сравнение със здрави пушачи, което вероятно допринася за нарушения **възпалителен отговор** (7).

За разлика от предходните резултати, Hassan et al. установяват *повишена* експресия на miR-199a-5p в моноцити при пациенти с ХОББ и  $\alpha$ 1-антитрипсинов дефицит (26). Mizuno et al. показват *увеличена* експресия на miR-199a-5p в белодробна тъкан на пациенти с ХОББ в сравнение с непущачи (43). Авторите обясняват резултатите с повишена експресия на p53 в следствие на оксидативен стрес, което увеличава miR-34a, последвано от увеличение на miR-199a-5p, най-вероятно чрез инактивация на АКТ (43) (фиг. 1).

significantly reduced effect in COPD patients compared to healthy controls (52).

#### miR-199a-5p

miR-199a-5p has a significantly *reduced* expression in T-regulatory cells in patients with COPD compared to healthy smokers, which probably contributes to the impaired **inflammatory response** (7).

In contrast to previous results, Hassan et al. establish *increased* expression of miR-199a-5p in monocytes in patients with COPD and  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency (26). Mizuno et al. showed *increased* expression of miR-199a-5p in lung tissue of patients with COPD compared to non-smokers (43). The authors explain the results with increased expression of p53 as a result of oxidative stress, which increases miR-34a, followed by an increase of the miR-199a-5p, most likely by inactivation of AKT (43) (fig. 1).

Фиг. 1. Механизъм на белодробна увреда.

Оксидативен стрес  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  p53  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  miR-34a  $\blacktriangleright$   $\downarrow$  АКТ  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  miR-199a-5p  $\blacktriangleright$   $\downarrow$  HIF-1 $\alpha$   $\blacktriangleright$   $\downarrow$  VEGF  $\blacktriangleright$  Нарушен възстановителен белодробен механизъм

Fig. 1. Mechanism of lung damage.

Oxidative stress  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  p53  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  miR-34a  $\blacktriangleright$   $\downarrow$  AKT  $\blacktriangleright$   $\uparrow$  miR-199a-5p  $\blacktriangleright$   $\downarrow$  HIF-1 $\alpha$   $\blacktriangleright$   $\downarrow$  VEGF  $\blacktriangleright$  Impaired pulmonary repair mechanism

Експресията на miR-199a-5p корелира право пропорционално с тежестта на ХОББ и с експресията на miR-34a, но не показва зависимост с броя на пакетогодините или с наличието на белодробен карцином (43).

Прекурсорът на miR-199a-5p намалява експресията на хипоксия индуцируем фактор 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), наблюдавано при пациенти с ХОББ (43, 67). Това намалява устойчивостта на белодробния ендотел, предразполагайки към емфизем.

HIF-1 $\alpha$  позитивно регулира съдовия ендотелен растежен фактор (VEGF) (31), който играе важна роля, тъй като премахването на неговия лиганд (60) и инхибирането на рецептора му (34) води до емфизем. VEGF е един от гените с най-силно намалена експресия в белия дроб при пациенти с ХОББ (4). Освен това, при тежка хипоксия HIF-1 $\alpha$  стабилизира p53 (51). Експресията на p53 е увеличена при пациенти с ХОББ и емфизем (47, 67), а p53 регулира експресията на miR-34a в отговор на ДНК увреда (6, 28).

#### miR-206

miR-206 вероятно участва в **системното възпаление** при ХОББ като нивата му корелират с ядрения NFkB p50. Тази връзка е налице при пациентите в стадий I и II по GOLD ( $r=0.4$ ) и липсва при пациентите в стадий III и IV по GOLD, където се наблюдава зависимост с IL-2 и IL-5 (14).

The expression of miR-199a-5p correlates positively with the severity of COPD and with the expression of miR-34a, but shows no correlation with the number of pack-years or with the presence of lung cancer (43).

The precursor of miR-199a-5p reduces the expression of hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), observed in patients with COPD (43, 67). This reduces the sustainability of the lung endothelium, predisposing to emphysema.

HIF-1 $\alpha$  positively regulates vascular endothelial growth factor (VEGF) (31), which plays an important role as the elimination of its ligand (60) and the inhibition of its receptor (34) leads to emphysema. VEGF is one of the genes with the most highly reduced expression in the lung in patients with COPD (4). Furthermore, in severe hypoxia, HIF-1 $\alpha$  stabilize p53 (51). The expression of p53 is increased in patients with COPD and emphysema (47, 67), and p53 regulates the expression of miR-34a in response to DNA damage (6, 28).

#### miR-206

miR-206 may be involved in **systemic inflammation** in COPD as its levels correlate with nuclear NFkB p50. This relationship is present in patients with GOLD stage I and II ( $r=0.4$ ) and is absent in patients with GOLD stage III and IV, where there is a correlation with IL-2 and IL-5 (14).

Серумните нива на miR-206 са значително *по-високи* при пациенти с ХОББ в сравнение с контроли и корелират правопрпорционално с ФЕО1 ( $r=0.25$ ) (14).

#### miR-218

Експресията на miR-218 е *намалена* при пушачи в сравнение с непушачи в бронхиален епител (54), в индуцирана храчка (61) и в БАЛ на пациенти с ХОББ (44). miR-218 вероятно увеличава експресията на транскрипционния фактор MAFG, който регулира множество гени, свързани с отговора към цигарен дим и **системното възпаление** (54).

#### miR-452

Експресията на miR-452 е *силно намалена* в алвеоларни макрофаги при активни пушачи в сравнение с непушачи (20). miR-452 инхибитор може да увеличи експресията на матрикс-на металопептидаза 12 (MMP12) мРНК, която играе важна роля в патогенезата на ХОББ като разгражда еластина и по този начин улеснява възникването на **емфизем** (27).

#### miR-499

Серумните нива на miR-499 са значително *по-високи* при пациенти с ХОББ в сравнение с контроли, което предполага ускорено разграждане на **мускулна тъкан** (14). Пациентите с напреднала ХОББ (стадий IV) имат понисък дял на тип I мускулни влакна, от които се освобождава miR-499 (62) и съответно пониски нива на последната (14). По тази причина намалението на miR-499 е свързано с намалена преживяемост, вероятно като резултат от кахексия (29). Освен това miR-499 показва позитивна корелация с ФЕО1 ( $r=0.26$ ), 6-минутния тест с ходене (6MWD) ( $r=0.22$ ), а при пациентите в стадий III и IV по GOLD – корелация с процентното количество тип I мускулни влакна ( $r=0.26$ ).

miR-499 вероятно участва и в **системното възпаление** при ХОББ – нивата му корелират с ядрения NFkB p50, като тази връзка е силна при пациентите в стадий I и II по GOLD ( $r=0.58$ ), и липсва при пациентите в стадий III и IV, където се наблюдава зависимост с IL-2 и IL-5 (14).

#### miR-638

Експресията на miR-638 показва *позитивна* корелация с **тежестта на емфизема** като са описани над 50 позитивно или негативно регулирани от нея продукта (8). Инхибирането ѝ в белодробни фибробласти води до свръхекспресия на контролираните от нея гени, свързани с отговора към оксидативен стрес и ремоделирането на извънклетъчния матрикс (8).

#### let-7c

let-7c (lethal-7c) е мРНК, чиято експресия е значително *по-ниска* в храчка при пациенти с ХОББ в сравнение с непушачи и пушачи без ХОББ (49, 61). В допълнение, let-7c показва връзка с ФЕО1, а тютюневият дим намалява експресията (32, 33). let-7c осъществява отрицателна обратна връзка с протеина RNF

Serum levels of miR-206 were significantly *higher* in patients with COPD compared to controls and correlate positively with the FEV1 ( $r=0.25$ ) (14).

#### miR-218

Expression of miR-218 is *reduced* in smokers compared with non-smokers in bronchial epithelium (54), in induced sputum (61) and in BAL of patients with COPD (44). miR-218 probably increases the expression of the transcription factor MAFG, which regulates many genes associated with the response to cigarette smoke and **systemic inflammation** (54).

#### miR-452

The expression of miR-452 is highly *reduced* in alveolar macrophages in active smokers compared to non-smokers (20). miR-452 inhibitor may increase the expression of matrix metalloproteinase 12 (MMP12) mRNA, which plays an important role in the pathogenesis of COPD as it degrades elastin and thereby facilitate the occurrence of **emphysema** (27).

#### miR-499

Serum levels of miR-499 were significantly *higher* in patients with COPD compared to controls, suggesting accelerated breakdown of **muscle tissue** (14). Patients with advanced COPD (stage IV) have a lower proportion of type I muscle fibers, from which to release miR-499 (62) and correspondingly low levels of the last (14). For this reason, the reduction of miR-499 is associated with decreased survival, probably as a result of cachexia (29). Moreover, miR-499 showed a positive correlation with FEV1 ( $r=0.26$ ), 6-minute walking distance (6MWD) ( $r=0.22$ ), and in patients with GOLD stage III and IV – correlation with the percentage amount of type I muscle fibers ( $r=0.26$ ).

miR-499 is also likely to play role in **systemic inflammation** in COPD – its levels correlate with nuclear NFkB p50 and this relationship is stronger in patients with GOLD stage I and II ( $r=0.58$ ) and absent in patients with stage III and IV where there is a correlation with IL-2 and IL-5 (14).

#### miR-638

The expression of miR-638 show a positive correlation with the **severity of emphysema** as there are more than 50 positively or negatively regulated by it products described (8). Its inhibition in lung fibroblasts leads to overexpression of genes controlled by it, related to the response to oxidative stress and remodeling of the extracellular matrix (8).

#### let-7c

let-7c (lethal-7c) is a miRNA with significantly *lower* expression in sputum in patients with COPD compared to non-smokers and smokers without COPD (49, 61). In addition, let-7c shows a relationship with FEV1, while tobacco smoke reduces its expression (32, 33). let-7c serves as a negative feedback to the protein RNF receptor II



рецептор II (TNFR-II). Пациенти с тежка и много тежка ХОББ имат значително увеличени нива на TNFR-II в храчка (61). Премахването на TNFR-II предпазва от индуцирани от цигарен дим възпаление и емфизем, което предполага участието му в патогенезата на ХОББ (12).

Намалената експресия на различните миРНК от семейството на let-7 при белодробен карцином е свързано с намалена преживяемост (58). let-7c миметици се изследват като антитуморни препарати (2) като интерес представлява и приложението му при ХОББ.

#### Заклучение

ХОББ е свързана с патологична експресия на редица миРНК като е налице определен експресионен профил (фиг. 2).

(TNFR-II). Patients with severe and very severe COPD had significantly increased levels of TNFR-II in sputum (61). The elimination of TNFR-II prevents cigarette smoke-induced inflammation and emphysema, suggesting its involvement in the pathogenesis of COPD (12).

The reduced expression of different miRNA of the family of let-7 in lung cancer is associated with decreased survival (58). let-7c mimetics are investigated as antitumor agents (2) and there is interest in its application in COPD.

#### Conclusion

COPD is associated with abnormal expression of a number of miRNAs with characteristic expression profile (fig. 2).

Фиг. 2. Биологични функции на миРНК в патогенезата на ХОББ.

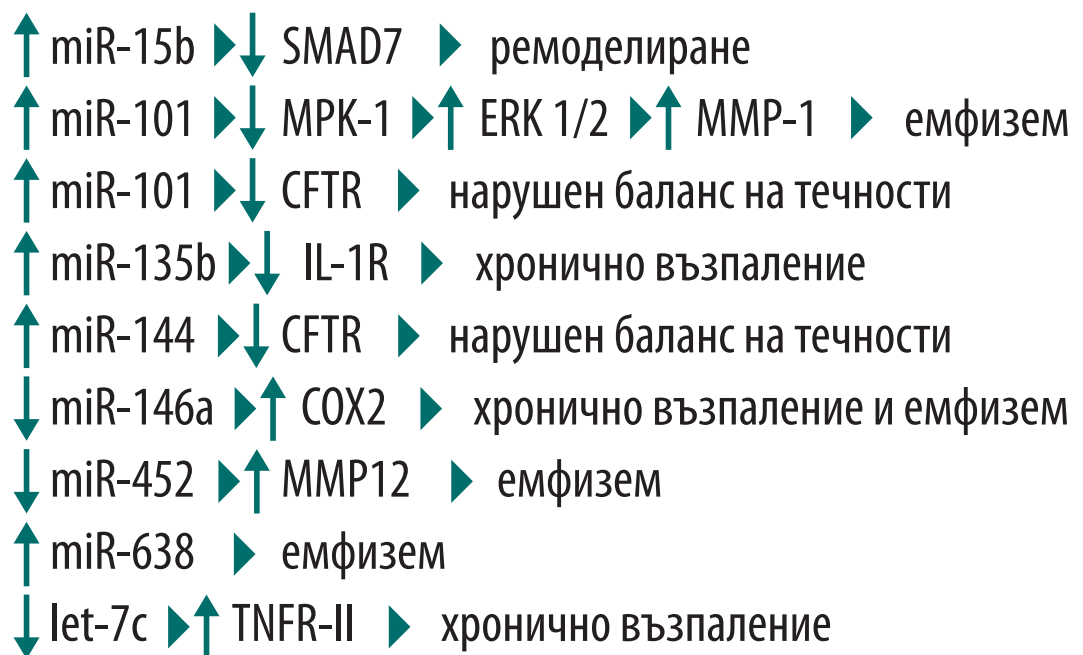
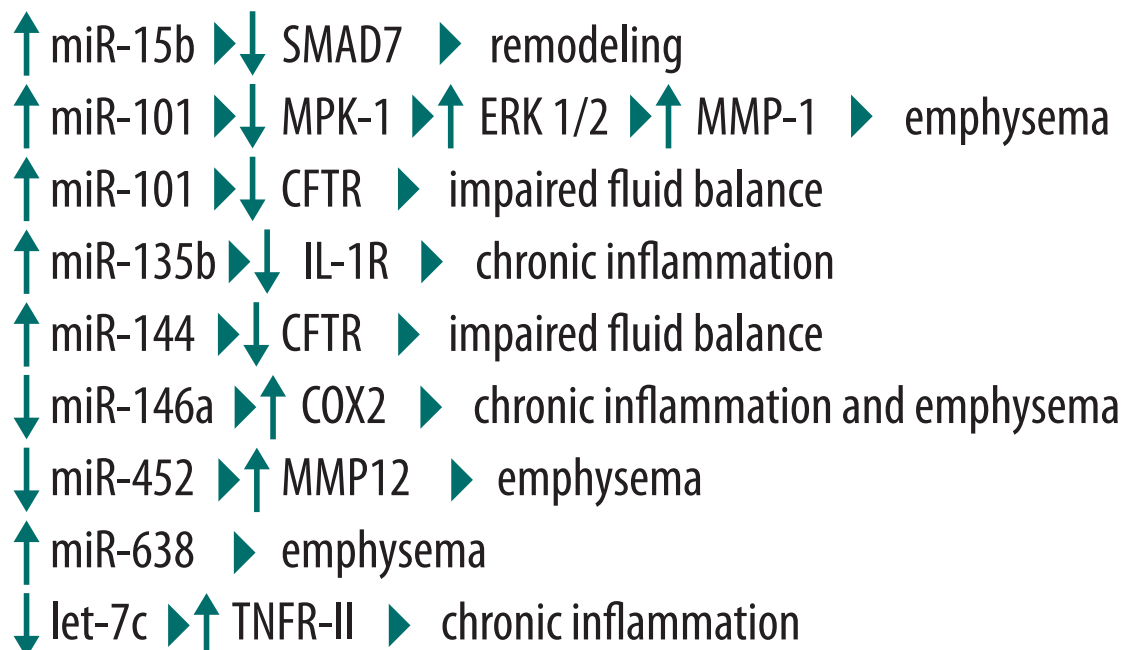


Fig. 2. Biological functions of miRNA in the pathogenesis of COPD.



При пациенти със стабилна ХОББ плазмените нива на мускулно-специфичните миРНК са увеличени, което говори за загуба на мускулна тъкан като е налице определен профил в зависимост от тежестта на заболяването и разпределението на мускулните влакна. Плазмените нива на miR-499 при пациенти с лека и умерено-тежка ХОББ корелират с ядрения NFκB p50, докато при пациенти с тежка и много тежка ХОББ miR-206 и miR-133 корелират с цитокините. Това показва мускулна загуба в по-ранните стадии в резултат на намалена физическа активност, докато при напреднало заболяване – със системно възпаление.

Защитата на организма срещу вредни въздействия от различни патогени и условия като цигарен дим изисква адекватен имунен отговор. Усиленият имунен отговор обаче може да доведе до поява на възпалителни заболявания като ХОББ. В тази връзка отрицателната обратна връзка е важен механизъм за предотвратяването му. миРНК-те са важен отрицателен регулатор и тяхната намалена експресия при ХОББ не подтиква усиления имунен отговор.

Не на последно място, патологичната експресия на някои миРНК може да обясни повишената честота на туморни процеси при пациенти с ХОББ.

Регулирането на нарушената експресия на миРНК при пациенти с ХОББ може да е реална терапевтична възможност.

In patients with stable COPD, plasma levels of muscle-specific miRNAs are increased, indicating a loss of muscle tissue and there is a specific profile depending on the severity of the disease and the distribution of muscle fibers. Plasma levels of miR-499 in patients with mild and moderate COPD correlate with nuclear NFκB p50, while in patients with severe and very severe COPD miR-206 and miR-133 correlate with cytokines. This indicates loss of muscle tissue in the early stage as a result of physical inactivity, whereas in advanced disease – of systemic inflammation.

Protecting the body against the harmful effects of various pathogens and conditions such as cigarette smoke, requires an adequate immune response. Enhanced immune response can lead to the onset of inflammatory diseases such as COPD. In respect to this, the negative feedback is an important prevention mechanism. miRNAs are an important negative regulator and their reduced expression in COPD does not suppress amplified immune response.

Last but not least, the pathological expression of certain miRNAs might explain the increased incidence of tumor processes in COPD patients.

The regulation of impaired expression of the miRNA in COPD patients can be a real therapeutic possibility.

## Книгопис:

## References:

1. Akbas F, Coskunpinar E, Aynaci E, et al. Analysis of serum micro-RNAs as potential biomarker in chronic obstructive pulmonary disease. *Exp Lung Res* 2012;38:286–94.
2. Barh D, Malhotra R, Ravi B, et al. MicroRNA let-7: an emerging next-generation cancer therapeutic. *Curr Oncol* 2010;17:70–80.
3. Bouchie A. First microRNA mimic enters clinic. *Nat Biotechnol* 2013;31:577.
4. Brandsma CA, van den Berge M, Postma DS, et al. A large lung gene expression study identifying fibulin-5 as a novel player in tissue repair in COPD. *Thorax* 2015;70:21–32.
5. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:175-205.
6. Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell.* 2007;26(5):745-752.
7. Chatila WM, Criner GJ, Hancock WW, et al. Blunted expression of miR-199a-5p in regulatory T cells of patients with chronic

- obstructive pulmonary disease compared to unaffected smokers. *Clin Exp Immunol* 2014;177:341–52.
8. Christenson SA, Brandsma CA, Campbell JD, et al. miR-638 regulates gene expression networks associated with emphysematous lung destruction. *Genome Med* 2013;5:114.
  9. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985;64:111–26.
  10. Chung A, Zhou S, Wang X, et al. The role of interleukin-1beta in murine cigarette smoke-induced emphysema and small airway remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009;40:482–90.
  11. Consortium EP, Bernstein BE, Birney E, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012;489:57–74.
  12. D'Hulst AI, Bracke KR, Maes T, et al. Role of tumour necrosis factor-alpha receptor p75 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema. *Eur Respir J* 2006;28:102–12.
  13. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol* 2009;27:519–50.
  14. Donaldson A, Natanek S, Lewis A, Man W, Hopkinson N, Polkey M, Kemp P. Increased skeletal muscle-specific microRNA in the blood of patients with COPD. *Thorax* 2013;68:1140–9.
  15. Doz E, Noulin N, Boichot E, et al. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is TLR4/MyD88 and IL-1R1/MyD88 signaling dependent. *J Immunol* 2008;180:1169–78.
  16. Ezzie ME, Crawford M, Cho JH, Orellana R, Zhang S, Gelinis R et al. Gene expression networks in COPD: microRNA and mRNA regulation. *Thorax*. 2012;67(2):122–31.
  17. Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanasi N, Callegari E, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104(40):15805–15810.
  18. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009;19:92–105.
  19. Gangaraju VK, Lin H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10(2):116–125.
  20. Graff JW, Powers LS, Dickson AM, et al. Cigarette smoking decreases global microRNA expression in human alveolar macrophages. *PLoS One* 2012;7:e44066.
  21. Gross TJ, Powers LS, Boudreau RL, et al. A microRNA processing defect in smokers' macrophages is linked to SUMOylation of the endonuclease DICER. *J Biol Chem* 2014;289:12823–34.
  22. Halappanavar S, Nikota J, Wu D, et al. IL-1 receptor regulates microRNA-135b expression in a negative feedback mechanism during cigarette smoke-induced inflammation. *J Immunol* 2013;190:3679–86.
  23. Hao S, Baltimore D: The stability of mRNA influences the temporal order of the induction of genes encoding inflammatory molecules. *Nat Immunol* 2009, 10(3):281–288.
  24. Hassan F Jr GN, ME Ezzie, P Diaz, E, et al. Cigarette smoke regulates the expression of the CFTR chloride channel in bronchial epithelial cells. 2011.
  25. Hassan F, Nuovo GJ, Crawford M, et al. MiR-101 and miR-144 regulate the expression of the CFTR chloride channel in the lung. *PLoS One* 2012;7:e50837.
  26. Hassan T, Carroll TP, Buckley PG, et al. miR-199a-5p silencing regulates the unfolded protein response in chronic obstructive pulmonary disease and alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;189:263–73.
  27. Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997;277:2002–4.
  28. Hermeking H. p53 enters the microRNA world. *Cancer Cell*. 2007;12(5):414–418.
  29. Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:1721–6.
  30. Huang SK, Wettlaufer SH, Chung J, et al. Prostaglandin E2 inhibits specific lung fibroblast functions via selective actions of PKA and Epac-1. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008;39:482–9.
  31. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, et al. Cellular and developmental control of O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev* 1998;12:149–62.
  32. Izzotti A, Calin GA, Arrigo P, et al. Downregulation of microRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke. *FASEB J* 2009;23:806–12.
  33. Izzotti A, Larghero P, Longobardi M, et al. Dose-responsiveness and persistence of microRNA expression alterations induced by cigarette smoke in mouse lung. *Mutat Res* 2011;717:9–16.
  34. Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000;106:1311–9.
  35. Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell*. 2006;11(4):441–450.
  36. Leidinger P, Keller A, Borries A, Huwer H, Rohling M, Huebers J. Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer*. 2011;74(1):41–7.
  37. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005;433:769–73.
  38. Liu X, Sempere LF, Galimberti F, et al. Uncovering growth-suppressive MicroRNAs in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:1177–83.
  39. Martey CA, Pollock SJ, Turner CK, et al. Cigarette smoke induces cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E2 synthase in human lung fibroblasts: implications for lung inflammation and cancer. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;287:L981–91.
  40. Mercer BA, Kolesnikova N, Sonett J, et al. Extracellular regulated kinase/mitogen activated protein kinase is up-regulated in pulmonary emphysema and mediates matrix metalloproteinase-1 induction by cigarette smoke. *J Biol Chem* 2004;279:17690–6.
  41. Mercer BA, Wallace AM, Brinckerhoff CE, et al. Identification of a cigarette smoke-responsive region in the distal MMP-1 promoter. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009;40:4–12.

42. Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, Safe S: The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67(22):11001-11011.
43. Mizuno S, Bogaard HJ, Gomez-Arroyo J, Alhussaini A, Kraskauskas D, Cool CD, Voelkel NF. MicroRNA-199a-5p is associated with hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in lungs from patients with COPD. *Chest*. 2012;142(3):663-72.
44. Molina-Pinelo S, Pastor MD, Suarez R, et al. MicroRNA clusters: dysregulation in lung adenocarcinoma and COPD. *Eur Respir J* 2014;43:1740-9.
45. Montuschi P, KS, Carpagnano E, Culpitt S, et al. Exhaled prostaglandin E2: a new biomarker of airway inflammation in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161 (A821).
46. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, et al. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 2003;58:585-8.
47. Morissette MC, Vachon-Beaudoin G, Parent J, Chakir J, Milot J. Increased p53 level, Bax/Bcl-x(L) ratio, and TRAIL receptor expression in human emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(3):240-247.
48. Pinkerton M, Chinchilli V, Banta E, et al. Differential expression of microRNAs in exhaled breath condensates of patients with asthma, patients with chronic obstructive pulmonary disease, and healthy adults. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:217-19.
49. Pottelberge GR, Mestdagh P, Bracke KR, et al. MicroRNA expression in induced sputum of smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(7):898-906.
50. Profita M, Sala A, Bonanno A, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and neutrophil infiltration: role of cigarette smoke and cyclooxygenase products. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010;298:L261-9.
51. Rane S, He M, Sayed D, Yan L, Vatner D, Abdellatif M. An antagonism between the AKT and beta-adrenergic signaling pathways mediated through their reciprocal effects on miR-199a-5p. *Cell Signal*. 2010;22(7):1054-1062.
52. Sato T, Liu X, Nelson A, et al. Reduced miR-146a increases prostaglandin E(2) in chronic obstructive pulmonary disease fibroblasts. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:1020-9.
53. Savarimuthu Francis SM, Davidson MR, Tan ME, et al. MicroRNA-34c is associated with emphysema severity and modulates SERPINE1 expression. *BMC Genomics* 2014;15:88.
54. Schembri F, Sridhar S, Perdomo C, et al. MicroRNAs as modulators of smoking-induced gene expression changes in human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:2319-24.
55. Schwanhauser B, Busse D, Li N, et al. Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 2011;473:337-42.
56. Spira A, Beane J, Shah V, et al. Effects of cigarette smoke on the human airway epithelial cell transcriptome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10143-8.
57. Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K: Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009, 460(7254):529-533.
58. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T: Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004, 64(11):3753-3756.
59. Tan Z, Randall G, Fan J, Camoretti-Mercado B, Brockman-Schneider R, Pan L, et al. Allele-specific targeting of microRNAs to HLA-G and risk of asthma. *Am J Hum Genet* 2007, 81(4):829-834.
60. Tang K, Rossiter HB, Wagner PD, et al. Lung-targeted VEGF inactivation leads to an emphysema phenotype in mice. *J Appl Physiol* (1985) 2004;97:1559-66; discussion 49.
61. Van Pottelberge GR, Mestdagh P, Bracke KR, et al. MicroRNA expression in induced sputum of smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:898-906.
62. van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance. *Dev Cell* 2009;17:662-73.
63. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA: Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science* 2007, 318(5858):1931-1934.
64. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010;56:1733-41.
65. Wiesen JL, Tomasi TB: Dicer is regulated by cellular stresses and interferons. *Mol Immunol* 2009, 46(6):1222-1228.
66. Xie L, Wu M, Lin H, et al. An increased ratio of serum miR-21 to miR-181a levels is associated with the early pathogenic process of chronic obstructive pulmonary disease in asymptomatic heavy smokers. *Mol Biosyst* 2014;10:1072-81.
67. Yasuo M, Mizuno S, Kraskauskas D, et al. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  in human emphysema lung tissue. *Eur Respir J*. 2011;37(4):775-783.
68. Zandvoort A, Postma DS, Jonker MR, et al. Altered expression of the Smad signalling pathway: implications for COPD pathogenesis. *Eur Respir J* 2006;28:533-41.
69. Zhu QY, Liu Q, Chen JX, et al. MicroRNA-101 targets MAPK phosphatase-1 to regulate the activation of MAPKs in macrophages. *J Immunol* 2010;185:7435-42.

**Кореспонденция**

Д-р Евгени Меков  
СБАЛББ „Св. София“ ЕАД  
Бул. „Акад. Ив. Гешов“ 19  
София

**Correspondence**

Evgeni Mekov, MD  
SHATPD "St. Sofia"  
19 "Acad. Iv. Geshov" Blvd.  
Sofia, Bulgaria

e-mail: dr\_mekov@abv.bg