

## PIWI-interacting RNAs as supporting biomarkers of rheumatoid arthritis

### Kwas rybonukleinowy oddziałujący z białkami PIWI – pomocnicze biomarkery reumatoidalnego zapalenia stawów

Marek Cieśla, Hubert Kubis, Bogdan Kolarz

Institute of Medical Sciences, College of Medical Sciences, University of Rzeszow, Poland

*Instytut Nauk Medycznych, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski, Polska*

**Key words:** rheumatoid arthritis, epigenetics, piwiRNA

**Słowa kluczowe:** reumatoidalne zapalenie stawów, epigenetyka, piwiRNA

**Introduction:** PIWI-interacting RNAs (piRNAs or PIR) are a class of small noncoding RNAs with a length of 24–31 nucleotides, which was initially discovered in germline cells. piRNAs interact with P-element induced wimpy testis-like (PIWL) proteins, members of the Argonaute proteins family, and they are capable of binding to the 3'UTR region of messenger RNA and inducing its degradation. Their participation in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) remains unclear.

**Material and methods:** The study included 37 patients with RA and 20 healthy controls. The characteristics of the patients were presented in Table I. Five piRNA molecules were selected for the study (PIR27731, PIR35982, PIR27400, PIR27124, PIR823). Blood samples were collected from individuals and peripheral blood mononuclear cells were isolated. Quantitative real-time polymerase chain reaction was used to evaluate the expression of piRNAs.

**Results:** PIR27124 had increased expression in RA patients compared to the control group (median [interquartile range]); 1.79 [1.13–3.27] vs. 0.94 [0.44–2.39] respectively,  $p = 0.04$ . Both PIR27731 and PIR35982 were negatively correlated with ESR ( $r_s = -0.47$  and  $r_s = -0.33$ , respectively). Moreover, both mentioned PIRs had increased expression in RF-negative RA patients compared to RA RF-positive patients (both  $p$ -values 0.045, Fig. 1).

**Conclusions:** piRNAs may be considered as a new supporting markers of RA, especially in seronegative RA patients. More research is required to confirm their role in the pathogenesis of disease.

*The study was approved by the Bioethics Committee of the University of Rzeszow (No. of protocol: 9/11/2020).*

**Wprowadzenie:** Kwas rybonukleinowy oddziałujący z białkami PIWI (piRNA lub PIR) to klasa małych niekodujących RNA o długości 24–31 nukleotydów, które początkowo odkryto w komórkach linii zarodkowej. Oddziałują z indukowanymi przez element P białkami podobnymi do jądra (PIWL), członkami rodziny białek Argonauty, i są zdolne do wiązania się z regionem 3'UTR informacyjnego RNA i indukowania jego degradacji. Ich udział w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) pozostaje niejasny.

**Materiał i metody:** W badaniu wzięto udział 37 chorych na RZS i 20 zdrowych osób w grupie kontrolnej. Charakterystykę pacjentów przedstawiono w tabeli I. Do badania wybrano 5 cząsteczek piRNA (PIR27731, PIR35982, PIR27400, PIR27124, PIR823). Od poszczególnych osób pobrano próbki krwi i wyizolowano komórki jednojądrzaste krwi obwodowej. Do oceny ekspresji piRNA zastosowano ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym.

**Wyniki:** PIR27124 wykazywał zwiększoną ekspresję u pacjentów z RZS w porównaniu z grupą kontrolną (mediana [przedział międzykwartylowy]); odpowiednio 1,79 [1,13–3,27] vs 0,94 [0,44–2,39],  $p = 0,04$ . Zarówno PIR27731, jak i PIR35982 były ujemnie skorelowane z OB (odpowiednio  $r_s = -0,47$  i  $r_s = -0,33$ ). Co więcej, oba wspomniane PIR charakteryzowały się zwiększoną ekspresją u pacjentów z RZS, z ujemnym wynikiem RF, w porównaniu z pacjentami z RZS RF-dodatnim (obie wartości  $p = 0,045$ , ryc. 1).

**Wnioski:** piRNA można uznać za nowy marker wspomagający rozpoznanie RZS, szczególnie u pacjentów z RZS seronegatywnym. Konieczne są dalsze badania, aby potwierdzić ich rolę w patogenezie choroby.

*Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego na badanie (nr protokołu: 9/11/2020).*

**Table I.** Characteristics of the subjects included in the study

Characteristics	RA (n = 37)	HC (n = 20)	p
Age [years]	57.8 ±7.1	54.8 ±6.8	0.13
Females [n (%)]	28 (75.7)	15 (75)	0.79
Duration of the disease [years]	11.5 [6–20]	n/a	n/a
RF-positive [n (%)]	27 (73)	1 (5)	< 0.0001
ACPA-positive [n (%)]	29 (78.4)	0	< 0.0001
ESR [mm/h]	18 [11–41]	8.5 [6–13.5]	0.007
DAS28	5.38 [2.88–5.99]	n/a	n/a
Swollen joints [n (%)]	3 [0–6]	n/a	n/a
Tender joints [n (%)]	7 [2–14]	n/a	n/a

Data are presented as mean ±SD; median [lower – upper quartile] or number (%).

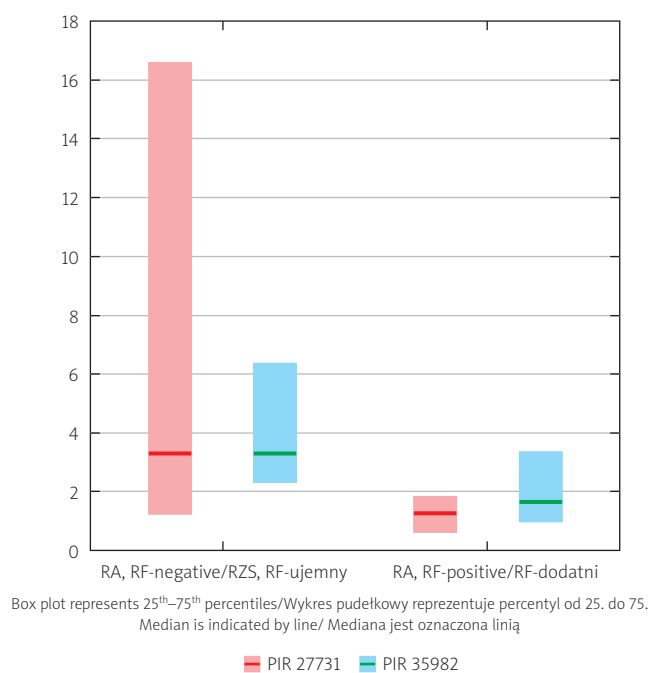
ACPA – anticitrullinated protein antibodies, DAS28 – Disease Activity Score 28, ESR – erythrocyte sedimentation rate, HC – healthy controls, n/a – not applicable, RA – patients with rheumatoid arthritis, RF – rheumatoid factor.

**Tabela I.** Charakterystyka osób włączonych do badania

Parametr	RZS (n = 37)	HC (n = 20)	p
Wiek [lata]	57,8 ±7,1	54,8 ±6,8	0,13
Kobiety [n (%)]	28 (75,7)	15 (75)	0,79
Czas trwania choroby [lata]	11,5 [6–20]	n/a	n/a
RF-dodatni [n (%)]	27 (73)	1 (5)	< 0,0001
ACPA-dodatni [n (%)]	29 (78,4)	0	< 0,0001
OB [mm/godz.]	18 [11–41]	8,5 [6–13,5]	0,007
DAS28	5,38 [2,88–5,99]	n/a	n/a
Opuchnięte stawy [n (%)]	3 [0–6]	n/a	n/a
Tkliwe stawy [n (%)]	7 [2–14]	n/a	n/a

Dane przedstawiono jako średnią ±SD; mediana [dolny – górny kwartył] lub liczba (%).

ACPA – przeciwciała przeciwko białku antycytrulinowanemu, DAS28 – Disease Activity Score 28, HC – zdrowe grupy kontrolne, n/a – nie dotyczy, OB – odczyn Biernackiego, RF – czynnik reumatoidalny, RZS – chorzy na reumatoidalne zapalenie stawów.

**Fig. 1.** Expression of PIR27731 and PIR35982 in patients with rheumatoid arthritis divided by rheumatoid factor positivity.

**Ryc. 1.** Ekspresja PIR27731 i PIR35982 u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów z dodatnim lub ujemnym czynnikiem reumatoidalnym.