



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

MiRNAs και καρκίνος

ΣΜΠΟΥΚΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ-ΑΡΙΑΔΝΗ

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών: Βασικές Βιοιατρικές Επιστήμες (ΒΒΕ)

Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής Βιολογίας

Ιωάννινα 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

MiRNAs και καρκίνος

ΣΜΠΟΥΚΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ-ΑΡΙΑΔΝΗ

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών: Βασικές Βιοιατρικές Επιστήμες (BBE)

Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής Βιολογίας

Ιωάννινα 2024

Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Όνοματεπώνυμο: Σμπούκη Παρασκευή Αριάδνη

Τίτλος: MiRNAs και καρκίνος

Ημερομηνία παρουσίασης: 29 Φεβρουαρίου 2024

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή Αξιολόγησης:

- 1.Επιβλέπων: Χαράλαμπος Αγγελίδης, Καθηγητής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
- 2.Μέλος επιτροπής: Πατρώνα Βεζυράκη, Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
- 3.Μέλος επιτροπής: Μαρία Καραγιώργου, Καθηγήτρια Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία με θέμα «MiRNAs και καρκίνος» πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες» με κατεύθυνση «Φαρμακολογία» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2023-2024.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων για την άριστη οργάνωση του μεταπτυχιακού προγράμματος και τη συνεχή επικοινωνία του με τους φοιτητές με σκοπό τη διεκπεραίωση της διατριβής εντός του καθορισμένου χρονικού πλαισίου.

Επιβλέπων ήταν ο κ. Χαράλαμπος Αγγελίδης, Καθηγητής Βιολογίας και διευθυντής του Εργαστηρίου Βιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, τον οποίο ευχαριστώ θερμά για την επίβλεψη του θέματος της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης και στα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής: την κ. Μαρία Καραγιώργου, Καθηγήτρια Βιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, η οποία ήταν πολύ υποστηρικτική και η βοήθεια ήταν πολύτιμη καθώς και την κ. Πατρώνα Βεζυράκη, Καθηγήτρια Φυσιολογίας και διευθύντρια του Εργαστηρίου Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για το αμείωτο ενδιαφέρον της, την συνεχή επικοινωνία και την καθοδήγηση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Τέλος, η συμβολή και η στήριξη της οικογένειάς μου κατά τη διάρκεια των σπουδών μου ήταν καθοριστική και τους οφείλω πολλές ευχαριστίες.

Περίληψη

Η διπλωματική αυτή εργασία εμβαθύνει στην περίπλοκη σχέση μεταξύ των microRNAs και του καρκίνου, διερευνώντας το ρόλο τους ως διαγνωστικοί βιοδείκτες και προγνωστικά εργαλεία στην εξατομικευμένη ιατρική. Αρχικά, η μελέτη παρέχει μια ολοκληρωμένη επισκόπηση της βιογένεσης του microRNA, της ρύθμισης και των επιπτώσεών τους στη βιολογία του καρκίνου. Εξετάζει τη δυσλειτουργία των microRNAs στον καρκίνο και τις δυνατότητές τους ως διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες. Στην συνέχεια, έμφαση δίνεται στη βιογένεση και τις λειτουργίες των microRNAs, διευκρινίζοντας τους μηχανισμούς ρύθμισής τους και τη συμμετοχή τους σε φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες και απορρύθμιση στον καρκίνο. Συζητά επίσης μεθόδους και τεχνικές για τη μελέτη της βιογένεσης και της απορρύθμισης του microRNA. Έπειτα, η εστίαση μετατοπίζεται στα πρότυπα έκφρασης των microRNAs σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου και στον ογκογόνο και ογκοκατασταλτικό ρόλο τους. Το κεφάλαιο διερευνά πώς τα microRNAs συμβάλλουν στην εξέλιξη του καρκίνου, στη μετάσταση και στις αλληλεπιδράσεις με ογκογόνες οδούς. Επιπρόσθετα, η εργασία εμβαθύνει στην ενσωμάτωση των διαγνωστικών microRNAs στην κλινική πρακτική, συζητώντας τις δυνατότητές τους ως διαγνωστικοί βιοδείκτες, προγνωστικά εργαλεία για την απόκριση στη θεραπεία και τις προκλήσεις και τις ευκαιρίες τους. Η διατριβή ολοκληρώνεται δίνοντας έμφαση στις μετασχηματιστικές δυνατότητες των διαγνωστικών microRNAs στην επανάσταση στη φροντίδα του καρκίνου και στην εξατομικευμένη ιατρική, προσφέροντας γνώσεις για τη διαστρωμάτωση των ασθενών, τον σχεδιασμό θεραπείας και τη βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων. Μέσω ολοκληρωμένης εξερεύνησης και ανάλυσης, αυτή η διατριβή ρίχνει φως στη βαθιά επίδραση των microRNAs στη βιολογία του καρκίνου και υπογραμμίζει τη σημασία τους στη διαμόρφωση του μέλλοντος της ογκολογικής πρακτικής.

Abstract

This thesis delves into the complex relationship between microRNAs and cancer, exploring their role as diagnostic biomarkers and prognostic tools in personalized medicine. First, the study provides a comprehensive overview of microRNA biogenesis, regulation and their implications in cancer biology. It examines the dysfunction of microRNAs in cancer and their potential as diagnostic and prognostic markers. Then, emphasis is placed on the biogenesis and functions of microRNAs, elucidating their regulatory mechanisms and their participation in normal cellular processes and dysregulation in cancer. It also discusses methods and techniques for studying microRNA biogenesis and deregulation. Then, the focus shifts to the expression patterns of microRNAs in different cancer types and their oncogenic and tumor suppressor roles. The chapter explores how microRNAs contribute to cancer progression, metastasis and interactions with oncogenic pathways. Additionally, the paper delves into the integration of microRNA diagnostics into clinical practice, discussing their potential as diagnostic biomarkers, prognostic tools for treatment response, and their challenges and opportunities. The thesis concludes by emphasizing the transformative potential of microRNA diagnostics in revolutionizing cancer care and personalized medicine, offering insights into patient stratification, treatment planning and improving clinical outcomes. Through comprehensive exploration and analysis, this thesis sheds light on the profound impact of microRNAs on cancer biology and highlights their importance in shaping the future of oncology practice.

Περιεχόμενα

<i>Πρόλογος</i>	5
<i>Περίληψη</i>	6
<i>Abstract</i>	7
<i>Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή</i>	10
1.1 Ιστορικό	10
1.1.1 Επισκόπηση των microRNAs	10
1.1.2 Ιστορικό για τον καρκίνο	11
1.2 Σημασία	12
1.2.1 Σημασία των μελετών microRNAs.....	12
1.2.2 Σημασία της έρευνας για τον καρκίνο	13
1.3 Στόχοι διατριβής	14
1.3.1 Σκοπός.....	14
1.3.2 Ερευνητικά Ερωτήματα	15
<i>Κεφάλαιο 2: MicroRNAs: Βιογένεση και Λειτουργίες</i>	16
2.1 Βιογένεση	16
2.1.1 Επισκόπηση της βιογένεσης microRNAs	16
2.1.2 Μηχανισμοί Ρύθμισης.....	20
2.2 Λειτουργίες	21
2.2.1 Φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες.....	21
2.2.2 Διαταραχή ρύθμισης στον Καρκίνο	23
2.3 Πειραματικές Τεχνικές	24
2.3.1 Μέθοδοι για τη μελέτη της βιογένεσης microRNAs	24
2.3.2 Τεχνικές για τη διερεύνηση της δυσρύθμισης	26
<i>Κεφάλαιο 3: Ο ρόλος των microRNAs στην ανάπτυξη του καρκίνου</i>	28
3.1 Μοτίβα έκφρασης	28
3.1.1 Έκφραση microRNAs σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου.....	28
3.1.2 Ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά πρότυπα	29

3.2 Επίδραση στον καρκίνο	31
3.2.1 MicroRNA στην εξέλιξη του καρκίνου	31
3.2.2 Μεταστατική επιρροή	38
3.3 Λειτουργικοί Μηχανισμοί.....	40
3.3.1 Πώς τα microRNAs συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου.....	40
3.3.2 Αλληλεπιδράσεις με Ογκογόνες Οδούς	44
<i>Κεφάλαιο 4: Διαγνωστικό και προγνωστικό δυναμικό των microRNAs.....</i>	<i>48</i>
4.1 Βιοδείκτες	48
4.1.1 Τα microRNAs ως διαγνωστικοί βιοδείκτες	48
4.1.2 Προγνωστική αξία στην ανταπόκριση στη θεραπεία	50
4.2 Προκλήσεις και ευκαιρίες	52
4.2.1 Τρέχουσες προκλήσεις.....	52
4.3 Κλινικές Εφαρμογές	54
4.3.1 Ενσωμάτωση των MicroRNA Diagnostics στην κλινική πράξη	54
4.3.2 Διαστρωμάτωση ασθενών και σχεδιασμός θεραπείας	56
<i>Συμπεράσματα</i>	<i>59</i>
<i>Βιβλιογραφία</i>	<i>61</i>

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Ιστορικό

1.1.1 Επισκόπηση των microRNAs

Τα microRNAs, κοινώς γνωστά ως miRNAs, είναι μια ομάδα μικροσκοπικών μορίων RNA που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες και έχουν ζωτική λειτουργία στον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης μετά τη μεταγραφή (Hammond, 2015). Αυτά τα μικρά μόρια RNA, που συνήθως αποτελούνται από 18 έως 22 νουκλεοτίδια, αναγνωρίστηκαν για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του 1990 και έκτοτε έχουν γίνει σημαντικοί συνεισφέροντες στον τομέα της μοριακής βιολογίας.

Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό των microRNAs είναι η ικανότητά τους να ρυθμίζουν επακριβώς την έκφραση γονιδίων με επιλεκτική προσκόλληση σε συγκεκριμένα μόρια αγγελιαφόρου RNA (mRNA). Η αλληλεπίδραση τυπικά λαμβάνει χώρα στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' UTR) του mRNA στόχου (Hammond, 2015). Αυτή η αλληλεπίδραση μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή του mRNA ή την καταστολή της μετάφρασής του σε μια λειτουργική πρωτεΐνη. Τα microRNAs λειτουργούν ως μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές, επιτρέποντας στα κύτταρα να προσαρμόζουν τις ποσότητες διαφορετικών πρωτεϊνών χωρίς να τροποποιούν τη θεμελιώδη αλληλουχία του DNA.

Τα microRNAs έχουν υψηλό επίπεδο διατήρησης μεταξύ διαφορετικών ειδών, υπογραμμίζοντας τη σημασία τους στη διαδικασία της εξέλιξης (O'Brien et al., 2018). Συμμετέχουν σε μια ποικιλία βιολογικών διεργασιών, που περιλαμβάνουν την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση των κυττάρων, την απόπτωση και τις ανοσολογικές αποκρίσεις. Λόγω της ικανότητάς τους να ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων, αποτελούν βασικά στοιχεία σύνθετων κυτταρικών δικτύων.

Επιπλέον, τα microRNAs έχουν συγκεντρώσει σημαντικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω της εμπλοκής τους σε αρκετές διαταραχές, ειδικά στον καρκίνο (Peng & Croce, 2016). Η απορρύθμιση της έκφρασης του microRNA έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση και την εξέλιξη διαφόρων μορφών καρκίνου. Ορισμένα microRNAs χρησιμεύουν ως ογκογονίδια, διευκολύνοντας την ανάπτυξη όγκων, ενώ άλλα λειτουργούν ως καταστολείς όγκου, εμποδίζοντας την ανάπτυξη καρκίνου. Το γεγονός ότι η λειτουργία του microRNA στον

καρκίνο είναι πολύπλοκη και εξαρτάται από τη ρύθμιση υπογραμμίζεται από αυτόν τον διπλό ρόλο.

1.1.2 Ιστορικό για τον καρκίνο

Ο καρκίνος είναι μια πολύπλοκη συλλογή διαταραχών που χαρακτηρίζονται από μη ρυθμισμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ικανότητα αυτών των ανώμαλων κυττάρων να διεισδύουν στους γειτονικούς ιστούς και να δίνουν μετάσταση σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος (Abbott & Ustoyev, 2019). Είναι ένας εξέχων παράγοντας που συμβάλλει στην εμφάνιση ασθενειών και θανάτου σε παγκόσμια κλίμακα, με εκατομμύρια νέα κρούσματα να εντοπίζονται κάθε χρόνο. Ο καρκίνος προέρχεται από γενετικές ανωμαλίες και διαταραχές στις τακτικές ρυθμιστικές διαδικασίες που ελέγχουν την κυτταρική διαίρεση και ανάπτυξη.

Ο καρκίνος έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει σχεδόν οποιονδήποτε ιστό ή όργανο στο ανθρώπινο σώμα, με αποτέλεσμα μια ποικιλία κακοηθειών, καθεμία από τις οποίες παρουσιάζει ξεχωριστά χαρακτηριστικά και δυσκολίες (Abbott & Ustoyev, 2019). Αυτή η ασθένεια είναι αδιάκριτη, επηρεάζοντας άτομα όλων των ηλικιακών ομάδων, φύλων και εθνικών καταβολών. Αν και ορισμένοι παράγοντες, όπως η χρήση καπνού, η έκθεση σε καρκινογόνες ουσίες και το οικογενειακό ιστορικό, μπορούν να αυξήσουν την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου, η ασθένεια παραμένει περίπλοκη και συχνά απρόβλεπτη.

Η απόκτηση γνώσεων σχετικά με τους μοριακούς και κυτταρικούς μηχανισμούς πίσω από τον καρκίνο είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων πρόληψης, διάγνωσης και θεραπείας της νόσου (Vishwakarma & Piddini, 2020). Με την πάροδο του χρόνου, η ενδεδειγμένη έρευνα έδειξε ότι ο καρκίνος δεν είναι μια μεμονωμένη πάθηση αλλά μάλλον ένα σύνολο παθήσεων, καθεμία από τις οποίες προωθείται από συγκεκριμένες γενετικές και μοριακές αλλαγές. Αυτή η ανακάλυψη άνοιξε ευκαιρίες για στρατηγικές ιατρικής ακριβείας, στις οποίες οι θεραπείες προσαρμόζονται με βάση τα μοναδικά γενετικά χαρακτηριστικά του όγκου ενός ατόμου.

Η τεράστια επίδραση του καρκίνου στους ασθενείς και την κοινωνία γενικότερα είναι σημαντική (Vishwakarma & Piddini, 2020). Παρουσιάζει αξιοσημείωτες σωματικές και συναισθηματικές δυσκολίες, καθώς και σημαντική οικονομική πίεση στα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης. Η προσπάθεια για τη θεραπεία του καρκίνου περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα πεδίων, συμπεριλαμβανομένων θεμελιωδών μελετών στη γενετική και την κυτταρική βιολογία, καθώς και κλινικές δοκιμές και φροντίδα ασθενών.

Τα microRNAs παίζουν ζωτικό ρόλο στον καρκίνο (Adams et al., 2014). Η δυσλειτουργία τους σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγήσει στην έναρξη, την πρόοδο και την εξάπλωση των όγκων. Τα microRNAs έχουν αποκτήσει σημαντική προσοχή ως πιθανοί διαγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί στόχοι στη μάχη κατά του καρκίνου.

1.2 Σημασία

1.2.1 Σημασία των μελετών microRNA

Η σημασία των μελετών των microRNAs δεν μπορεί να παραλειφθεί, καθώς αυτά τα μικροσκοπικά μόρια RNA έχουν θεμελιώδη επίδραση στον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης, επηρεάζοντας σχεδόν όλες τις πτυχές της κυτταρικής λειτουργίας και ανάπτυξης (Girardi et al., 2018). Η κατανόηση των πολύπλοκων μηχανισμών μέσω των οποίων λειτουργούν τα microRNAs παίζει καθοριστικό ρόλο για την μελέτη διάφορων κλάδων της βιολογίας και της ιατρικής.

Τα microRNAs είναι επίσης σημαντικά μόρια για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης τόσο σε υγιείς όσο και σε παθολογικές καταστάσεις. Λειτουργούν ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης μετά τη μεταγραφή, επιτρέποντας στα κύτταρα να προσαρμοστούν σε παραλλαγές στο περιβάλλον, αναπτυξιακά σήματα και στρεσογόνους παράγοντες που σχετίζονται με ασθένειες (Girardi et al., 2018). Τα microRNAs παίζουν ρόλο στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης ρυθμίζοντας τις ποσότητες συγκεκριμένων πρωτεϊνών.

Οι μελέτες microRNA είναι ιδιαίτερα κρίσιμες στο πλαίσιο του καρκίνου. Ο ανώμαλος έλεγχος της έκφρασης του microRNA είναι ένα διακριτικό χαρακτηριστικό πολλών τύπων καρκίνου και αυτά τα ελαττωματικά μόρια RNA μπορούν να χρησιμεύσουν τόσο ως ογκογονίδια όσο και ως ογκοκατασταλτικά (Smolarz et al., 2022). Η μελέτη της λειτουργίας των microRNAs στον καρκίνο αποφέρει σημαντική κατανόηση των μοριακών διεργασιών της ασθένειας και πιθανές ευκαιρίες για τον εντοπισμό, την πρόβλεψη και τη θεραπεία της.

Η έρευνα των microRNAs προσφέρει επίσης δυνατότητες στον τομέα της εξατομικευμένης θεραπείας. Η δημιουργία προφίλ των προτύπων έκφρασης των microRNAs σε όγκους μεμονωμένων ασθενών μπορεί να διευκολύνει την ανάπτυξη προσαρμοσμένων επιλογών θεραπείας (Smolarz et al., 2022). Η ογκολογία ακριβείας, που αναφέρεται επίσης ως εξατομικευμένη ιατρική, επιδιώκει να μεγιστοποιήσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας ελαχιστοποιώντας παράλληλα τις ανεπιθύμητες ενέργειες.

Επιπλέον, τα microRNAs έχουν αναγνωρισθεί ως πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες για διάφορες ασθένειες, που περιλαμβάνουν όχι μόνο τον καρκίνο αλλά και καρδιαγγειακά προβλήματα, νευρολογικές παθήσεις και αυτοάνοσες ασθένειες (Pogribny, 2018). Η ύπαρξή τους σε ανθρώπινα υγρά, όπως το αίμα και τα ούρα, τα καθιστά διαθέσιμα για μη επεμβατικές διαγνωστικές εξετάσεις, μεταμορφώνοντας θεμελιωδώς τον τρόπο με τον οποίο εντοπίζουμε και παρακολουθούμε τις ασθένειες.

1.2.2 Σημασία της έρευνας για τον καρκίνο

Η σημασία της έρευνας για τον καρκίνο στον σύγχρονο κόσμο είναι κρίσιμη, δεδομένης της ευρείας επιρροής του καρκίνου στην παγκόσμια υγεία. Η συγκεκριμένη νόσος προκαλεί την απώλεια εκατομμυρίων ζώων ετησίως και παρουσιάζει σημαντικά εμπόδια στα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης (Ben-David & Amon, 2020). Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας να επιμείνουμε στη διερεύνηση και την ενίσχυση της κατανόησης της.

Η σημασία της έρευνας για τον καρκίνο έγκειται στην ικανότητά της να αυξάνει τα ποσοστά επιβίωσης επιτρέποντας την έγκαιρη ανίχνευση και την ενίσχυση των εναλλακτικών θεραπειών. Η απόκτηση βαθύτερης κατανόησης των θεμελιωδών γενετικών και μοριακών αιτιών του καρκίνου μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία πιο αποτελεσματικών διαγνωστικών εργαλείων και θεραπειών (Maman & Witz, 2018). Αυτές οι τεχνολογικές εξελίξεις έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τα ποσοστά επιβίωσης και να βελτιώνουν την ποιότητα ζωής για όσους έχουν διαγνωστεί με καρκίνο.

Επιπλέον, η έρευνα για τον καρκίνο είναι ζωτικής σημασίας για την αποκρυπτογράφηση της περίπλοκης ποικιλομορφίας του καρκίνου. Είναι σημαντικό να προσαρμόζεται η θεραπεία για κάθε ασθενή με βάση τις ιδιαίτερες ανάγκες του, επειδή κάθε τύπος καρκίνου έχει μοναδικά χαρακτηριστικά και γενετικές αλλαγές (Maman & Witz, 2018). Οι εξατομικευμένες στρατηγικές ιατρικής, που προωθούνται από την έρευνα για τον καρκίνο, προσπαθούν να ευθυγραμμίσουν τις θεραπείες με τα διακριτικά γενετικά χαρακτηριστικά των όγκων, παρέχοντας αισιοδοξία για πιο ακριβή και αποτελεσματικά φάρμακα.

Η έρευνα για τον καρκίνο είναι σημαντική στο πλαίσιο τόσο της πρόληψης όσο και του μετριασμού των κινδύνων (Ben-David & Amon, 2020). Οι ερευνητές μπορούν να σχεδιάσουν στρατηγικές για έγκαιρη παρέμβαση και προσαρμογές στον τρόπο ζωής, βρίσκοντας και κατανοώντας τους παράγοντες κινδύνου και τις γενετικές προδιαθέσεις που συνδέονται με

διαφορετικούς τύπους κακοηθειών. Αυτές οι προσπάθειες μπορούν να βοηθήσουν στην πρόληψη και τη μετρίαση της εμφάνισης καρκίνου.

1.3 Στόχοι διατριβής

1.3.1 Σκοπός

Ο κύριος σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η διεξαγωγή μιας διεξοδικής και λεπτομερούς έρευνας σχετικά με τη συμμετοχή των microRNAs στον καρκίνο. Αυτή η διατριβή επιδιώκει να παραθέσει πολύτιμες γνώσεις στον τομέα της μοριακής ογκολογίας διερευνώντας το σύνθετο πεδίο της βιολογίας των microRNAs και τη σημασία τους στο σχηματισμό και την εξέλιξη του καρκίνου.

Ο κύριος στόχος είναι να αποσαφηνιστούν οι διαδικασίες μέσω των οποίων τα microRNAs ελέγχουν την έκφραση γονιδίων και πώς η διαταραγμένη ρύθμισή τους μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση και την εξέλιξη του καρκίνου. Αυτή η εργασία στοχεύει να αποσαφηνίσει την περίπλοκη σχέση μεταξύ των microRNAs και των πολύπλοκων βιολογικών οδών που ρυθμίζουν τον καρκίνο, διενεργώντας μια ολοκληρωμένη ανάλυση των τρεχόντων ερευνητικών ευρημάτων και της επιστημονικής βιβλιογραφίας.

Επιπλέον, η παρούσα εργασία στοχεύει να τονίσει την κλινική σημασία των microRNAs στους τομείς της ανίχνευσης, της πρόγνωσης και της θεραπείας του καρκίνου. Στόχος είναι η αξιολόγηση της δυνατότητας των microRNAs ως βιοδεικτών και θεραπευτικών στόχων, με σκοπό τη σύνδεση της βασικής έρευνας με τις κλινικές εφαρμογές. Αυτό θα παρέχει πρακτικές γνώσεις που μπορεί να είναι επωφελείς για τους ασθενείς και τους επαγγελματίες υγείας.

Ένας άλλος ζωτικός στόχος αυτής της εργασίας είναι να τονίσει τη δυνατότητα των microRNAs ως πιθανή οδό για εξατομικευμένη θεραπεία καρκίνου. Διερευνώντας τα διαφορετικά πρότυπα έκφρασης των microRNAs σε διάφορους τύπους καρκίνου, τη συμμετοχή τους στην κατηγοριοποίηση ασθενών και τη δημιουργία ειδικών θεραπειών, στόχος είναι η ανάδειξη της ικανότητας των μεθόδων που βασίζονται σε microRNAs στην προσαρμογή των θεραπειών καρκίνου για μεμονωμένους ασθενείς.

1.3.2 Ερευνητικά Ερωτήματα

Στο πλαίσιο της επιδίωξης μιας ολοκληρωμένης εξερεύνησης των microRNAs και του ρόλου τους στον καρκίνο, αυτή η εργασία εξετάζει διάφορα ερευνητικά ερωτήματα που θα καθοδηγήσουν τη διερεύνηση και την ανάλυση:

1. Πώς συμμετέχουν τα microRNAs στη μετα-μεταγραφική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και ποιοι είναι οι βασικοί μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία;
2. Ποια είναι η σημασία της απορρύθμισης του microRNA στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου και πώς τα συγκεκριμένα microRNAs δρουν ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου;
3. Μπορούν τα προφίλ έκφρασης microRNA να χρησιμεύσουν ως αξιόπιστοι βιοδείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου και πώς συγκρίνονται με τις παραδοσιακές διαγνωστικές μεθόδους;
4. Ποιες θεραπευτικές στρατηγικές υπάρχουν για τη στόχευση των microRNAs στη θεραπεία του καρκίνου και ποιες είναι οι προκλήσεις και οι πιθανές ανακαλύψεις στην ανάπτυξη θεραπειών που βασίζονται σε microRNAs;
5. Πώς μπορεί η μελέτη των microRNAs να συμβάλει στο αναδυόμενο πεδίο της ογκολογίας ακριβείας και ποιες είναι οι προοπτικές για την προσαρμογή των θεραπειών για τον καρκίνο με βάση τα προφίλ microRNA;

Κεφάλαιο 2: MicroRNAs: Βιογένεση και Λειτουργίες

2.1 Βιογένεση

2.1.1 Επισκόπηση της βιογένεσης microRNA

Η διαδικασία της βιογένεσης microRNA είναι περίπλοκη και αυστηρά ελεγχόμενη, οδηγώντας στην παραγωγή πλήρως ανεπτυγμένων microRNA. Αυτά τα microRNA έχουν κρίσιμες λειτουργίες στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μετά τη μεταγραφή (MacFarlane & R. Murphy, 2010). Η κατανόηση της πολυπλοκότητας της σύνθεσης microRNA είναι απαραίτητη για την κατανόηση της σημασίας τους σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου τους στον καρκίνο. Τα microRNAs αλληλεπιδρούν με τα mRNA στόχους τους με δύο διαφορετικούς τρόπους μέσω διαφορετικών μονοπατιών ανάλογα το βαθμό συμπληρωματικότητας του microRNA με το mRNA στόχο. Το RNAi μονοπάτι ακολουθείται στη περίπτωση τέλει ή πολύ καλής συμπληρωματικότητας των δύο μορίων, ενώ το άλλο μονοπάτι ακολουθείται στη περίπτωση ατελούς συμπληρωματικότητας των δύο μορίων.-

Η διαδικασία σχηματισμού microRNA ξεκινά με τη μεταγραφή, όπου τα γονίδια microRNA μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II ή III σε πρωτογενή μεταγραφήματα microRNA, γνωστά ως pri-microRNA (primary miRNA) (Liu et al., 2008). Τα pri-microRNA έχουν συχνά μήκος αρκετές εκατοντάδες νουκλεοτίδια και μπορεί να έχουν ένα ή περισσότερα σχήματα φουρκέτας. Κάθε δομή φουρκέτας σημαίνει ένα δυνητικό πρόδρομο pre-microRNA, το οποίο είναι ένα πρόδρομο microRNA. Το επόμενο στάδιο στο μονοπάτι της βιογένεσης συνεπάγεται τη μετατροπή των pri-microRNA σε pre-microRNA. Η επεξεργασία υποβοηθάται από ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που ονομάζεται Μικροεπεξεργαστής, το οποίο περιλαμβάνει το ένζυμο RNase III Drosha και τον συμπαράγοντά του DGCR8 (DiGeorge syndrome crucial region of gene 8) (Liu et al., 2008). Ο Μικροεπεξεργαστής αναγνωρίζει και κόβει το pri-microRNA, απελευθερώνοντας το pre-microRNA που έχει δομή σαν φουρκέτα και έχει συνήθως μήκος περίπου 70 νουκλεοτίδια. Αυτή η διαίρεση λαμβάνει χώρα εντός του πυρήνα του κυττάρου.

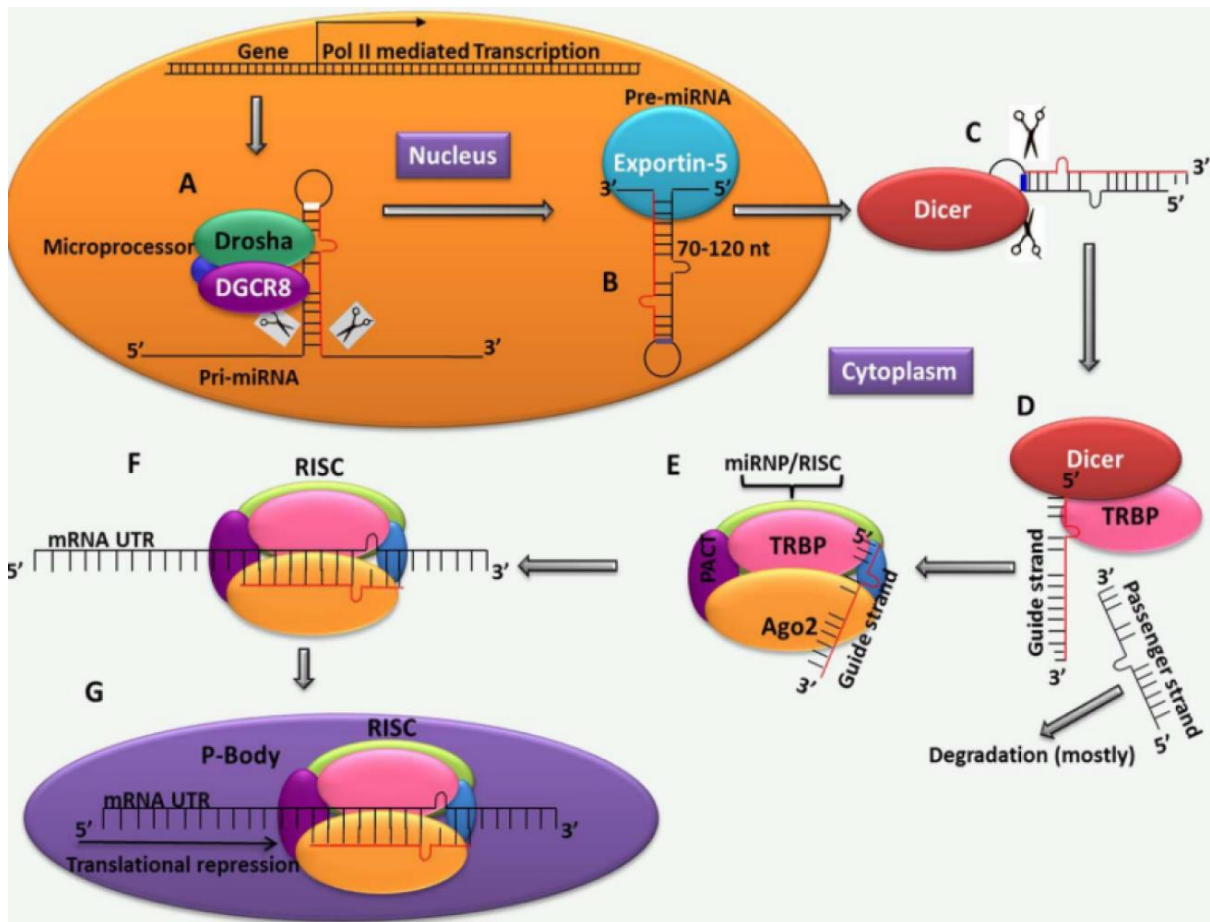
Το πρόδρομο microRNA στη συνέχεια μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα μέσω του πυρηνικού παράγοντα εξαγωγής Exportin-5. Μέσα στο κυτταρόπλασμα, τα pre-microRNA υφίστανται πρόσθετη επεξεργασία που διευκολύνεται από ένα ένζυμο RNase III γνωστό ως Dicer, σε συνδυασμό με τη σχετική πρωτεΐνη TRBP (HIV-1 TAR RNA-binding protein) (Liu

et al., 2008). Το Dicer διασπά ενζυματικά το μόριο pre-microRNA σε κοντινή απόσταση από τον τερματικό βρόχο, οδηγώντας στη δημιουργία ενός μορίου δίκλωνου RNA που έχει μήκος περίπου 22 νουκλεοτίδια. Το ώριμο διπλό MicroRNA είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει αυτό το δίκλωνο RNA.

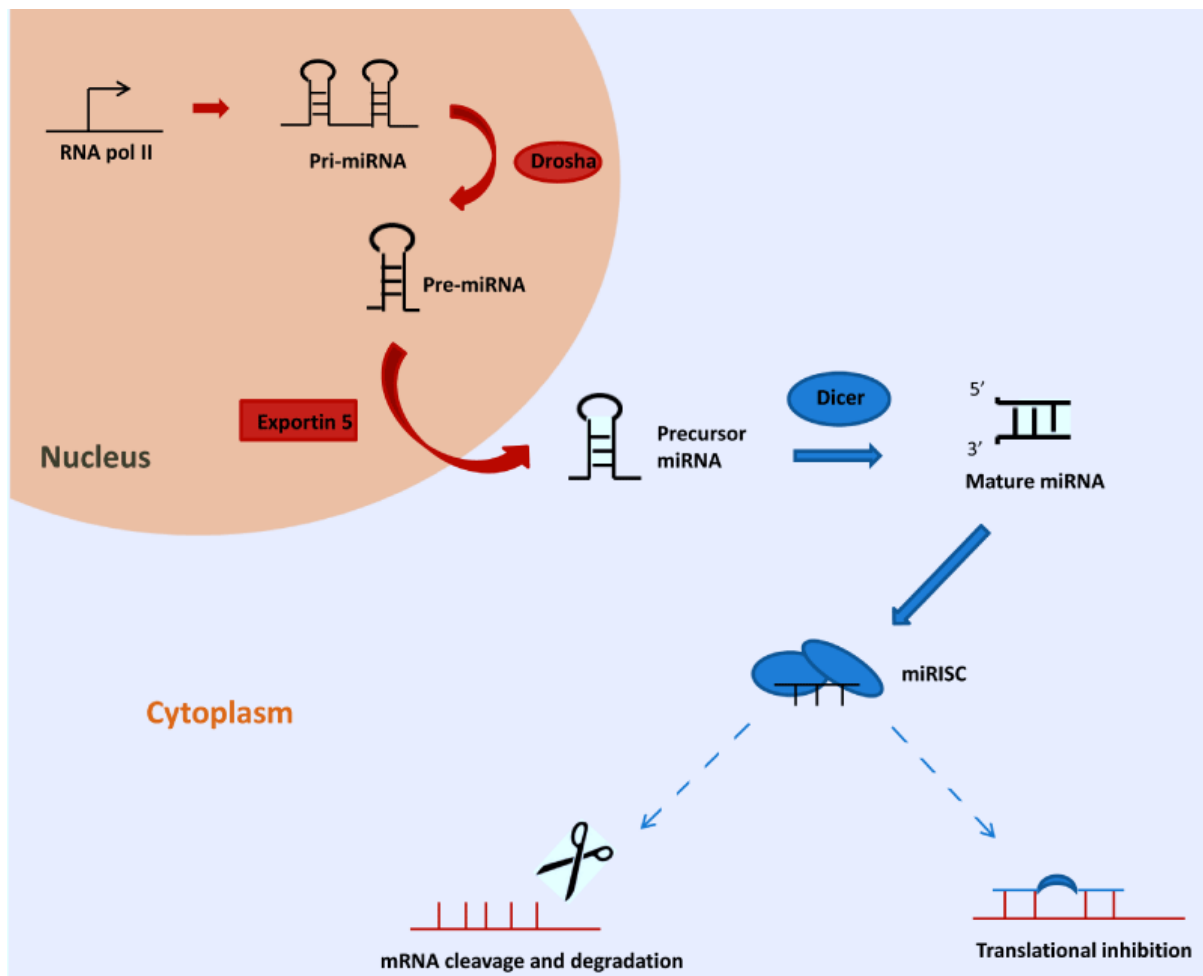
Το τελικό στάδιο στη σύνθεση του microRNA συνεπάγεται τη διάσπαση του ώριμου διπλού microRNA στους δύο μεμονωμένους μονόκλωνους ώριμους κλώνους microRNA: τον οδηγό κλώνο και τον κλώνο επιβατών (Sun et al., 2009). Οι κλώνοι εισάγονται σε μια πρωτεΐνη Argonaute εντός ενός εξειδικευμένου πρωτεϊνικού συμπλέγματος RISC. Ο οδηγός κλώνος, που επιλέχθηκε για τη θερμοδυναμική του σταθερότητα στο 5' άκρο, μετασχηματίζεται στο λειτουργικό ώριμο microRNA. Το σκέλος επιβατών συνήθως υπόκειται σε υποβάθμιση.

Μόλις το microRNA ωριμάσει και ενσωματωθεί επιτυχώς στο σύμπλεγμα RISC, είναι πλήρως προετοιμασμένο να εκτελέσει τον ρυθμιστικό του ρόλο. Το σύμπλεγμα RISC κατευθύνεται σε συγκεκριμένα μόρια αγγελιαφόρου RNA (mRNA) όπου δεσμεύεται σε συμπληρωματικές περιοχές στην αμετάφραστη περιοχή 3' του mRNA (3' UTR) (Sun et al., 2009). Αυτή η αλληλεπίδραση έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της μετάφρασής του σε μια λειτουργική πρωτεΐνη αν και τα επίπεδα mRNA παραμένουν σταθερά. Στη περίπτωση που ενεργοποιείται το μονοπάτι RNAi, τα mRNAs συνδέονται λόγω τέλει συμπληρωματικότητας με τα microRNAs και επάγεται η διάσπασή τους από το σύμπλοκο miRISC (multiprotein RNA induced silencing complex).

Η διαδικασία σύνθεσης microRNA ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό και οποιαδήποτε διαταραχή σε οποιοδήποτε στάδιο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ισορροπία μέσα στα κύτταρα. Η μη φυσιολογική παραγωγή microRNAs έχει συνδεθεί με διάφορες διαταραχές, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου (Chen, 2005). Η κατανόηση των πολυπλοκοτήτων που εμπλέκονται στη διαδικασία της σύνθεσης microRNAs είναι ζωτικής σημασίας για την απόκτηση πολύτιμων γνώσεων σχετικά με τους μηχανισμούς που οδηγούν στην ανώμαλη ρύθμιση των microRNAs στα καρκινικά κύτταρα και τη συμβολή τους στην ανάπτυξη καρκίνου.



Εικόνα 1: Μονοπάτι βιογένεσης *miRNA*. Η RNA πολυμεράση II μεταγράφει το *miRNA*. Ένα εσώνιο αποκόπτεται από το αρχικό *miRNA* και αυτό αποτελεί το πρωταρχικό *miRNA* (*primary miRNA*, *pri-miRNA*). Το *pri-miRNA* με τη βοήθεια της RNάσης Drosha και του DGCR8 διασπάται, και σχηματίζεται το πρόδρομο *pre-miRNA*. Το *pre-miRNA* με τη βοήθεια της εξαπορτίνης 5 εξάγεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Η πρωτεΐνη Dicer μετατρέπει το *pre-miRNA* σε ένα ώριμο *miRNA* ύστερα από επεξεργασία. Το ώριμο πλέον *miRNA* ενσωματώνεται στο σύμπλοκο RISC και στην συνέχεια δεσμεύεται στην 3' UTR ενός mRNA στόχο λόγω συμπληρωματικότητας (Yeung et al., 2005).



Εικόνα 2: Μονοπάτι βιογένεσης *miRNA* και πρόσδεση του στο *mRNA* στόχο μέσω του μονοπατιού *RNAi* (Lynch & Wang, 2014). Η *RNA* πολυμεράση II μεταγράφει το *miRNA*. Αρχικά σχηματίζεται το *pri-miRNA*. Με τη βοήθεια της *RNA*σής *Drosha* σχηματίζεται το *pre-miRNA* το οποίο με την βοήθεια τη εξπορτίνης 5 μεταναστεύει από το πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Εκεί υφίσταται επεξεργασία από το ένζυμο *Dicer* και μετατρέπεται στο ώριμο *miRNA*. Τέλος η μία αλυσίδα του ώριμου *miRNA* δεσμεύεται στο *mRNA* στόχο μέσω του σύμπλοκου *miRISC* και επάγεται η διάσπαση του δίκλωνου μορίου που σχηματίστηκε άρα και η καταστροφή του *mRNA* στόχου.

Διάφορα *miRNA* τα οποία παίζουν πρωτεύοντα ρόλο στην ανάπτυξη και την εξέλιξη διάφορων τύπου καρκίνου ακολουθούν για τη βιοσύνθεσή τους το παραπάνω μονοπάτι. Ορισμένα από αυτά αφορούν *miRNA* από την οικογένεια *let-7* τα οποία εμπλέκονται στο γλοιοβλάστωμα, το *miR-155* που εμπλέκεται στο καρκίνο του μαστού, το *miR-21* που συμμετέχει στην εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου καθώς και άλλα μόρια που θα αναλυθούν παρακάτω.

2.1.2 Μηχανισμοί Ρύθμισης

Οι διαδικασίες σύνθεσης και λειτουργίας του microRNA ρυθμίζονται σε μεγάλο βαθμό, διασφαλίζοντας τον ακριβή έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης μετά τη μεταγραφή. Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν μια σειρά από πρωτεΐνες, ένζυμα και μοριακά συμβάντα που ελέγχουν συλλογικά την ωρίμανση και τη δραστηριότητα του microRNA. Ο μεταγραφικός έλεγχος είναι ζωτικής σημασίας στον τομέα της βιογένεσης microRNA. Οι μεταγραφικοί παράγοντες έχουν την ικανότητα είτε να ενεργοποιούν είτε να καταστέλλουν τη μεταγραφή των γονιδίων microRNA δεσμεύοντας τους προαγωγείς αυτών των γονιδίων. Επιγενετικές αλλοιώσεις όπως η μεθυλίωση του DNA και η ακετυλίωση ιστόνης επηρεάζουν επίσης την προσβασιμότητα των γονιδίων microRNA, επηρεάζοντας επομένως τα επίπεδα έκφρασής τους.

Ο έλεγχος του microRNA επηρεάζεται επίσης από τη γονιδιακή δομή τους. Ορισμένα γονίδια microRNA βρίσκονται μέσα στα εσώνια των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και η έκφρασή τους μπορεί να συσχετιστεί με τον έλεγχο του γονιδίου ξενιστή. Ορισμένα γονίδια βρίσκονται σε διαγονιδιακές περιοχές και ρυθμίζονται ανεξάρτητα.

Τα ένζυμα Drosha και Dicer, τα οποία παίζουν ζωτικό ρόλο στην επεξεργασία του microRNA, ρυθμίζονται από μόνα τους. Η δραστηριότητα της ωρίμανσης του microRNA μπορεί να επηρεαστεί από αρκετούς συμπαράγοντες και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητά του. Οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν το RNA, όπως το Lin28 και το hnRNP A1, εμπλέκονται με τα pre-microRNAs, επηρεάζοντας την επεξεργασία τους από τους Drosha και Dicer. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν την ικανότητα είτε να αυξάνουν είτε να εμποδίζουν συγκεκριμένα microRNA, διευκολύνοντας έτσι τις ακριβείς αλλαγές στα επίπεδα microRNA (Leitão & Enguita, 2022).

Έπειτα, ο σχηματισμός του επαγόμενου από RNA συμπλέγματος σιγής (RISC) παίζει κρίσιμο ρόλο στη λειτουργία του microRNA (Leitão & Enguita, 2022). Η διαδικασία φόρτωσης του ώριμου κλώνου microRNA σε μια πρωτεΐνη Argonaute εντός του RISC είναι μια ελεγχόμενη διαδικασία που περιλαμβάνει ορισμένες πρωτεΐνες όπως AGO2 και GW182. Τα microRNAs αναγνωρίζουν τα mRNA-στόχους τους αναγνωρίζοντας τη συμπληρωματικότητα της αλληλουχίας, κυρίως στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' UTR) του mRNA (Leitão & Enguita, 2022). Η ειδικότητα της στόχευσης καθορίζεται από τον βαθμό συμπληρωματικότητας μεταξύ ενός microRNA και του στόχου του. Είναι δυνατό για ένα μεμονωμένο microRNA να στοχεύει

πολλά mRNA, και αντιστρόφως, ένα μεμονωμένο mRNA μπορεί να ρυθμιστεί από πολλαπλά microRNAs. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πολύπλοκου ρυθμιστικού δικτύου.

Μία περιοχή στο 5' άκρο ενός microRNA, που ονομάζεται περιοχή εκβλάστησης (seed region, SR) και συνήθως αποτελείται από 2-8 νουκλεοτίδια, παίζει ζωτικό ρόλο στην αναγνώριση και τη δέσμευση του στόχου του. Η παρουσία συμπληρωματικών αλληλουχιών στην περιοχή αυτή είναι κρίσιμη για την αποτελεσματική καταστολή (Sun et al., 2009). Η ισχύς της ρύθμισης επηρεάζεται τόσο από τον αριθμό όσο και από τη θέση των θέσεων-στόχων εντός του mRNA.

Οι αλληλουχίες microRNA έχουν την ικανότητα να υφίστανται μετα-μεταγραφικές αλλοιώσεις, όπως για παράδειγμα επεξεργασία στο 3' άκρο ή στο 5' άκρο, που έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό isomiRs, δηλαδή αλληλουχιών που διαθέτουν παραλλαγές σε σχέση με την αλληλουχία αναφοράς. Αυτά τα isomiR διαθέτουν μοναδικές ιδιαιτερότητες στόχου και ρυθμιστικά χαρακτηριστικά (Sun et al., 2009). Η έρευνα για τη ρύθμιση της επεξεργασίας microRNA και της παραγωγής isomiR κερδίζει αυτήν τη στιγμή την προσοχή. Τα ανταγωνιστικά ενδογενή RNA (ceRNA) προσθέτουν ένα επιπλέον επίπεδο ρύθμισης στο microRNA. Τα μη κωδικοποιητικά RNA, ψευδογονίδια και κυκλικά RNA μπορούν να λειτουργήσουν ως «σφουγγάρια» ή «δόλωμα» συλλαμβάνοντας τα microRNAs και εμποδίζοντάς τα να αλληλεπιδράσουν με τα mRNA-στόχους τους, επηρεάζοντας έτσι τα ρυθμιστικά τους αποτελέσματα.

2.2 Λειτουργίες

2.2.1 Φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες

Τα microRNAs παίζουν κρίσιμο ρόλο στις φυσιολογικές κυτταρικές δραστηριότητες, διασφαλίζοντας τον ακριβή έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης που είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της κυτταρικής ισορροπίας και τη σωστή λειτουργία διαφορετικών βιολογικών οδών (Shang et al., 2023). Η κυτταρική διαφοροποίηση είναι μια ζωτικής σημασίας διαδικασία κατά την οποία τα μη εξειδικευμένα βλαστοκύτταρα εξελίσσονται σε εξειδικευμένους κυτταρικούς τύπους και τα microRNAs παίζουν κεντρικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία (Ha & Kim, 2014). Κατά τη διαδικασία της διαφοροποίησης, ορισμένα microRNA είτε αυξάνονται είτε μειώνονται, παίζοντας κρίσιμο ρόλο στην κατεύθυνση της μετατροπής πολυδύναμων κυττάρων σε ορισμένους τύπους ιστών. Ο κανονισμός αυτός εγγυάται την κατάλληλη ανάπτυξη και λειτουργία ιστών και οργάνων. Τα microRNAs παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη (Shang et al., 2023). Ελέγχουν το χρονοδιάγραμμα της γονιδιακής έκφρασης σε όλη

την εμβρυογένεση, διασφαλίζοντας ότι οι διαδοχικές φάσεις ανάπτυξης συμβαίνουν με συγχρονισμένο τρόπο. Η διαταραχή αυτών των συστημάτων χρονισμού μπορεί να οδηγήσει σε αναπτυξιακά προβλήματα.

Τα microRNAs διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου ελέγχοντας την πρόοδο μεταξύ πολλών φάσεων του κυτταρικού κύκλου, συμπεριλαμβανομένων των G1, S, G2 και M. Έχουν την ικανότητα είτε να διευκολύνουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου είτε να την εμποδίζουν στοχεύοντας επιλεκτικά τα κρίσιμα κύτταρα ρυθμιστές κύκλου (Shang et al., 2023). Η αποτελεσματική ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση του τακτικού πολλαπλασιασμού των κυττάρων και της ομοιόστασης των ιστών. Επιπλέον, τα microRNAs παίζουν καθοριστικό ρόλο στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (MacFarlane & R. Murphy, 2010). Ελέγχουν την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με ανοσολογικές αποκρίσεις, όπως η ανάπτυξη και η διέγερση των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Τα microRNAs βοηθούν στην ακριβή ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων, ελαχιστοποιώντας έτσι την εμφάνιση υπερβολικής φλεγμονής ή αυτοάνοσων αντιδράσεων. Τα microRNAs έχουν σημαντική επίδραση στις μεταβολικές διεργασίες. Ελέγχουν τη δραστηριότητα των γονιδίων που σχετίζονται με την επεξεργασία της γλυκόζης, των λιπιδίων και τη διατήρηση της ενεργειακής ισορροπίας (MacFarlane & R. Murphy, 2010). Η ανισορροπία των microRNAs στις μεταβολικές οδούς μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης και το μεταβολικό σύνδρομο.

Τα microRNAs παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διασφάλιση της κατάλληλης ανάπτυξης και λειτουργίας του εγκεφάλου. Ρυθμίζουν τη διαδικασία της κυτταρικής εξειδίκευσης σε νευρώνες και γλοιακά κύτταρα, την ικανότητα των συνάψεων να αλλάζουν και να προσαρμόζονται και τη διατήρηση των νευρικών συνδέσεων (Shang et al., 2023). Η μη φυσιολογική έκφραση του microRNA στον εγκέφαλο συνδέεται με νευρολογικές ασθένειες όπως η νόσος Αλτσχάιμερ και η νόσος Πάρκινσον. Επιπλέον, τα microRNAs διαδραματίζουν ρόλο στην απόκριση του κυτταρικού στρες βοηθώντας τα κύτταρα να προσαρμοστούν σε διαφορετικούς στρεσογόνους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του οξειδωτικού στρες, της βλάβης του DNA και των περιβαλλοντικών δυσκολιών (MacFarlane & R. Murphy, 2010). Ανάλογα με τις περιστάσεις και τους συγκεκριμένους στόχους, έχουν την ικανότητα είτε να διευκολύνουν την κυτταρική επιβίωση είτε να ξεκινούν μονοπάτια κυτταρικού θανάτου.

Ακόμη, τα microRNAs παίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών αποτρέποντας τον μη φυσιολογικό πολλαπλασιασμό ή τη διαφοροποίηση των κυττάρων,

διατηρώντας επομένως τους εξειδικευμένους ρόλους των κυττάρων μέσα στους ιστούς (Ha & Kim, 2014). Βοηθούν στη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας των ιστών καθ' όλη τη διάρκεια ζωής ενός οργανισμού. Η απόπτωση, μια διαδικασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, ρυθμίζεται από τα microRNAs (Ha & Kim, 2014). Έχουν την ικανότητα είτε να διεγείρουν είτε να εμποδίζουν την απόπτωση επηρεάζοντας επιλεκτικά γονίδια που προάγουν ή καταστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο, ανάλογα με τις συγκεκριμένες συνθήκες και τα ερεθίσματα μέσα στο κύτταρο. Η ακριβής ρύθμιση της απόπτωσης είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και τη συντήρηση των ιστών.

2.2.2 Διαταραχή ρύθμισης στον Καρκίνο

Η διαταραχή των microRNAs είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα του καρκίνου, που επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη και την εξέλιξη της νόσου (Perron & Provost, 2008). Η απορρύθμιση των microRNAs στα καρκινικά κύτταρα έχει ως αποτέλεσμα τροποποιήσεις στην έκφραση και τη λειτουργικότητά τους, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν διάφορες κυτταρικές αλλοιώσεις που διευκολύνουν την ανάπτυξη όγκων (Treiber et al., 2012). Αρκετά microRNAs λειτουργούν ως καταστολείς όγκου στοχεύοντας συγκεκριμένα ογκογονίδια ή γονίδια που παίζουν ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση (Perron & Provost, 2008). Στο πλαίσιο του καρκίνου, η έκφραση αυτών των microRNAs που καταστέλλουν την ανάπτυξη του όγκου μειώνεται συχνά, γεγονός που οδηγεί σε ανεξέλεγκτη παραγωγή πρωτεϊνών που προκαλούν καρκίνο και διευκολύνει την ανάπτυξη όγκων.

Από την άλλη πλευρά, ορισμένα microRNAs δρουν ως ογκογονίδια στοχεύοντας ειδικά γονίδια που εμποδίζουν την ανάπτυξη όγκου ή γονίδια που εμπλέκονται στην επισκευή του DNA. Στο πλαίσιο του καρκίνου, η έκφραση αυτών των ογκογόνων microRNAs μπορεί να αυξηθεί, οδηγώντας σε εξασθένηση σημαντικών διεργασιών που καταστέλλουν την ανάπτυξη του όγκου (Perron & Provost, 2008). Η μη φυσιολογική επεξεργασία του microRNA και η παραγωγή isomiR μπορεί επίσης να οδηγήσει σε διαταραχή στον έλεγχο του καρκίνου. Τροποποιημένες ή εναλλακτικές εκδόσεις των microRNAs μπορεί να εμφανίζουν αλλαγμένες ειδικότητες στόχου ή ρυθμιστικές λειτουργίες, επηρεάζοντας την ισορροπία ογκογονικών και ογκοκατασταλτικών δράσεων.

Οι επιγενετικές αλλοιώσεις, όπως η μεθυλίωση του DNA και οι αλλαγές ιστόνης, έχουν την ικανότητα να αποσιωπούν τα γονίδια microRNA ή να τροποποιούν την προσβασιμότητα του προαγωγέα τους. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις μπορούν να οδηγήσουν σε ανώμαλα πρότυπα

έκφρασης microRNA στα καρκινικά κύτταρα. Παράλληλα, ανωμαλίες στις πρωτεΐνες και τα ένζυμα που εμπλέκονται στη βιογένεση του microRNA, όπως οι πρωτεΐνες Drosha, Dicer ή Argonaute, μπορούν να διαταράξουν την ακριβή ρύθμιση της ωρίμανσης του microRNA. Η δυσλειτουργία του μηχανήματος επεξεργασίας microRNA μπορεί να οδηγήσει σε μη φυσιολογικά προφίλ έκφρασης microRNA στον καρκίνο (Treiber et al., 2012).

Οι ανισορροπίες στις ποσότητες των ceRNAs, όπως τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNA και τα κυκλικά RNA, μπορούν να εκτρέψουν τα microRNAs από τα επιδιωκόμενα mRNA-στόχους στα καρκινικά κύτταρα (Treiber et al., 2012). Ο ανταγωνισμός για τη σύνδεση του microRNA έχει τη δυνατότητα να διαταράξει το ρυθμιστικό δίκτυο που εμφανίζεται μετά τη μεταγραφή. Οι επιπτώσεις της απορρύθμισης του microRNA στον καρκίνο είναι εκτεταμένες και πολύπλοκες. Τα απορρυθμισμένα microRNAs μπορούν να διεγείρουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων, να αποτρέψουν τον κυτταρικό θάνατο, να ενθαρρύνουν το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων και να βοηθήσουν στην εξάπλωση του καρκίνου επηρεάζοντας τη δραστηριότητα των κρίσιμων γονιδίων που σχετίζονται με αυτές τις βιολογικές διεργασίες. Επιπλέον, τα microRNAs έχουν τη δυνατότητα να ενισχύσουν την αντίσταση στη θεραπεία και να επηρεάσουν τη συνολική πρόγνωση των ατόμων με καρκίνο.

2.3 Πειραματικές Τεχνικές

2.3.1 Μέθοδοι για τη μελέτη της βιογένεσης microRNA

Η διερεύνηση της διαδικασίας της βιογένεσης του microRNA απαιτεί τη χρήση αρκετών μεθοδολογιών και προσεγγίσεων για την αποκρυπτογράφηση των πολύπλοκων μηχανισμών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη αυτών των μικρών μορίων RNA (Chen, 2005). Μέθοδοι επιμόλυνσης και υπερέκφρασης χρησιμοποιούνται συχνά για την εισαγωγή συγκεκριμένων πρόδρομων μορίων microRNA (προ-microRNA) ή μιμήσεων στα κύτταρα, επιτρέποντας την ενισχυμένη παραγωγή ορισμένων MicroRNA με σκοπό τη διερεύνηση της επιρροής τους σε γονίδια στόχους και κυτταρικές διεργασίες. Τεχνικές knockdown, όπως μικροσκοπικές τεχνολογίες παρεμβολής RNA (siRNA) ή κοντές φουρκέτες RNA (shRNA), εφαρμόζονται για να εξετάσουν τον αντίκτυπο των μειωμένων επιπέδων microRNA (MacFarlane & R. Murphy, 2010). Αυτές οι τεχνικές επικεντρώνονται ειδικά στα ενδογενή microRNA, επιτρέποντας στους ερευνητές να εξετάσουν τους λειτουργικούς τους ρόλους.

Η μικροσυστοιχία και η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) είναι προηγμένες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση και τη μέτρηση των ποσοτήτων έκφρασης microRNA σε

διαφορετικά βιολογικά δείγματα (Perron & Provost, 2008). Το προφίλ microRNA προσφέρει εξαιρετικές γνώσεις σχετικά με περιεκτικές αλλαγές στην έκφραση του microRNA που συνδέονται με συγκεκριμένες ασθένειες, όπως ο καρκίνος. Το στύπωμα Northern είναι μια συμβατική μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό συγκεκριμένων microRNA (Du & Zamore, 2005). Η διαδικασία συνεπάγεται τον διαχωρισμό των microRNA χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση, την επακόλουθη μεταφορά τους σε μια μεμβράνη και τη χρήση επισημασμένων ανιχνευτών που είναι συμπληρωματικοί με τα microRNAs που ενδιαφέρουν προκειμένου να οπτικοποιηθεί και να μετρηθεί η ποσότητα τους.

Η Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) είναι μια εξαιρετικά ακριβής τεχνική που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των ποσοτήτων της έκφρασης microRNA με μεγάλη ευαισθησία (Du & Zamore, 2005). Η διαδικασία συνεπάγεται τη μετατροπή των microRNA σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) χρησιμοποιώντας αντίστροφη μεταγραφή και στη συνέχεια τη χρήση ενίσχυσης PCR σε πραγματικό χρόνο για την ακριβή μέτρηση της ποσότητας συγκεκριμένων microRNA σε ένα δεδομένο δείγμα.

Οι αναλύσεις αναφοράς χρησιμοποιούνται συχνά για την εξέταση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των microRNA και των γονιδίων-στόχων τους. Αυτές οι αναλύσεις συχνά περιλαμβάνουν κλωνοποίηση του 3' UTR ενός mRNA στόχου κατάντη ενός γονιδίου αναφοράς (π.χ. λουσιφεράσης) για να τονιστούν τα ρυθμιστικά αποτελέσματα του MicroRNA στον στόχο (Olejniczak et al., 2018). Λειτουργικές μελέτες αξιολογούν τις βιολογικές επιδράσεις συγκεκριμένων microRNA σε κυτταρικές διεργασίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, ο θάνατος, ο κυτταρικός κύκλος, η μετανάστευση και η εισβολή. Αυτές οι δοκιμές βοηθούν στον προσδιορισμό της επίδρασης των microRNA σε διαφορετικές κυτταρικές δραστηριότητες (Chong et al., 2010).

Ακόμη, τεχνικές ανοσοκατακρήμνισης (IP), όπως η ανοσοκαθίζηση RNA (RIP) και η ανοσοκατακρήμνιση (CLIP), χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ microRNA και mRNA με απομόνωση συμπλεγμάτων RNA και πρωτεϊνών. Αυτές οι τεχνικές παρέχουν πληροφορίες για τους μοναδικούς εταίρους σύνδεσης των microRNA (Olejniczak et al., 2018). Η φασματομετρία μάζας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανακάλυψη πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην παραγωγή και τη λειτουργία του microRNA. Έχει την ικανότητα να αποκαλύπτει πρωτεϊνικά σύμπλοκα που συνδέονται με σημαντικά ένζυμα όπως οι πρωτεΐνες Drosha, Dicer και Argonaute, κάτι που προσφέρει πολύτιμη κατανόηση του ρυθμιστικού μηχανισμού.

Η τεχνολογία CRISPR/Cas9, η οποία είναι μια μέθοδος για την επεξεργασία γονιδιωμάτων, χρησιμοποιείται για τη δημιουργία γενετικά επεξεργασμένων κυττάρων ή ζώων που έχουν τροποποιημένα πρότυπα έκφρασης microRNA (Zhao et al., 2019). Αυτά τα μοντέλα είναι εξαιρετικά για την εξέταση των *in vivo* επιδράσεων συγκεκριμένων microRNA. Μαζί, αυτές οι μεθοδολογίες παρέχουν ένα ολοκληρωμένο σύνολο εργαλείων για τη μελέτη της διαδικασίας σχηματισμού microRNA, του ρόλου του στις βιολογικές λειτουργίες και της ρύθμισής του σε διάφορες βιολογικές καταστάσεις.

2.3.2 Τεχνικές για τη διερεύνηση της δυσρύθμισης

Διάφορες μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την εξέταση της ανωμαλίας στην έκφραση και το ρόλο του microRNA σε ασθένειες, ειδικά στον καρκίνο. Αυτές οι τεχνολογίες επιτρέπουν στους ερευνητές να αποκαλύψουν ακριβείς τροποποιήσεις στα προφίλ microRNA και τα προκύπτοντα αποτελέσματά τους (Zhao et al., 2019). Αναλυτικότερα, το προφίλ microRNA περιλαμβάνει τη χρήση προηγμένων εργαλείων όπως οι μικροσυστοιχίες και η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) για την ανάλυση και την καταγραφή ολόκληρης της έκφρασης του microRNA σε βιολογικά δείγματα. Συγκρίνοντας τα προφίλ microRNA φυσιολογικών και κακοήθων ιστών, οι ερευνητές μπορούν να βρουν δυσρυθμισμένα microRNA που σχετίζονται με τον καρκίνο.

Η ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου (qRT-PCR) είναι μια κρίσιμη τεχνική για την επιβεβαίωση και τη μέτρηση αλλαγών στην έκφραση του microRNA. Παρέχει υψηλό επίπεδο ευαισθησίας και ειδικότητας, επιτρέποντας τον ποσοτικό προσδιορισμό συγκεκριμένων microRNA σε κλινικά δείγματα (Zhao et al., 2019). Οι τεχνικές *in situ* υβριδισμού, όπως η υβριδοποίηση φθορισμού *in situ* (FISH) και οι ανιχνευτές κλειδωμένου νουκλεϊκού οξέος (LNA), επιτρέπουν την οπτικοποίηση συγκεκριμένων προτύπων έκφρασης microRNA στους ιστούς. Αυτό προσφέρει γεωγραφικά δεδομένα σχετικά με την ανώμαλη ρύθμιση του microRNA σε κακοήθεις περιοχές. Οι λειτουργικές δοκιμασίες αξιολογούν την επίδραση των απορυθμισμένων microRNA στη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων. Οι δοκιμασίες περιλαμβάνουν πολλαπλασιασμό κυττάρων, μετανάστευση και εισβολή, απόπτωση και ανάλυση κυτταρικού κύκλου. Αποκαλύπτουν τον ακριβή ρόλο ορισμένων microRNA στην πρόοδο της κακοήθειας.

Ακόμη, τα υπολογιστικά εργαλεία και οι αλγόριθμοι βιοπληροφορικής χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη πιθανών γονιδίων-στόχων μη ρυθμισμένων microRNA (Leitão & Enguita,

2022). Μέσω του προσδιορισμού αυτών των στόχων, οι ερευνητές αποκτούν πολύτιμη κατανόηση των οδών και των διαδικασιών που επηρεάζονται από τα απορυθμισμένα microRNA στον καρκίνο. Οι δοκιμασίες αναφοράς λουσιφεράσης χρησιμοποιούνται για να επιβεβαιώσουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των απορυθμισμένων microRNA και των γονιδίων-στόχων τους. Αυτές οι μελέτες καθορίζουν εάν ένα συγκεκριμένο microRNA μπορεί να αλλάξει την έκφραση των αναμενόμενων γονιδίων-στόχων του. Επιπλέον, ζωικά μοντέλα που έχουν τροποποιηθεί γενετικά για να έχουν αλλάξει τα πρότυπα έκφρασης microRNA χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των συνεπειών των απορυθμισμένων microRNA στη γένεση και την εξέλιξη του καρκίνου σε ζωντανούς οργανισμούς (Leitão & Enguita, 2022). Αυτά τα μοντέλα προσφέρουν κρίσιμες γνώσεις σχετικά με τις λειτουργικές προεκτάσεις της απορρύθμισης του microRNA.

Τέλος, τεχνικές ανοσοκατακρήμνισης, όπως η ανοσοκατακρήμνιση RNA (RIP) και η διασυνδετική ανοσοκαθίζηση (CLIP), χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό των ειδικών mRNA που συνδέονται με μη ρυθμισμένα microRNAs (Olejniczak et al., 2018). Αυτές οι στρατηγικές παρέχουν πληροφορίες για τα ρυθμιστικά δίκτυα που επηρεάζονται από τη δυσρύθμιση του microRNA. Η επιγενετική ανάλυση αποκαλύπτει ότι η απορρύθμιση της έκφρασης του microRNA σχετίζεται με επιγενετικές αλλοιώσεις στον καρκίνο (Chong et al., 2010). Η έρευνα επικεντρώνεται στην εξέταση της μεθυλίωσης του DNA και των τροποποιήσεων ιστόνης σε συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους των microRNAs προκειμένου να αποκτήσει μια εικόνα για την επιγενετική ρύθμιση των microRNA στον καρκίνο.

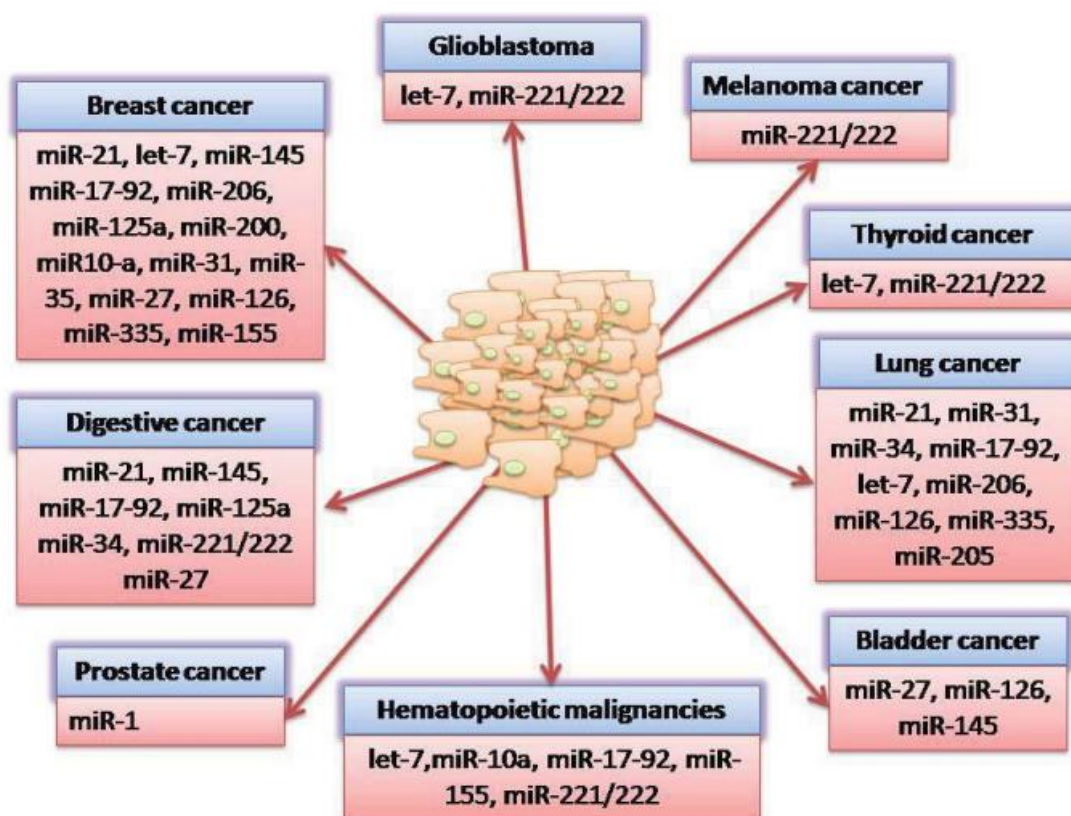
Κεφάλαιο 3: Ο ρόλος των microRNAs στην ανάπτυξη του καρκίνου

3.1 Μοτίβα έκφρασης

3.1.1 Έκφραση microRNA σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου.

Η έκφραση των microRNAs εμφανίζει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των διαφόρων τύπων καρκίνου, υποδεικνύοντας τα περίπλοκα και διαφορετικά χαρακτηριστικά αυτών των ασθενειών (Shen et al., 2019). Μελέτες που εξετάζουν τα πρότυπα έκφρασης microRNA σε διάφορες μορφές καρκίνου έχουν δείξει αρκετά σημαντικά ευρήματα. Αναλυτικότερα, κάθε μορφή καρκίνου συχνά εμφανίζει ένα ξεχωριστό πρότυπο έκφρασης microRNA. Αυτή η υπογραφή περιλαμβάνει τόσο αυξημένα όσο και μειωμένα microRNA που συμβάλλουν συλλογικά στα συγκεκριμένα μοριακά χαρακτηριστικά του όγκου (Shen et al., 2019). Ο εντοπισμός αυτών των χαρακτηριστικών microRNA μπορεί να έχει επιπτώσεις στη διάγνωση και την πρόγνωση. Αρκετοί τύποι καρκίνου εμφανίζουν μειωμένη έκφραση ορισμένων microRNA που έχουν ογκοκατασταλτικές ιδιότητες. Τα microRNA γενικά επικεντρώνονται σε ογκογονίδια ή γονίδια που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τον θάνατο και την αγγειογένεση. Η μειωμένη έκφρασή τους διευκολύνει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και την εξέλιξη του όγκου.

Αντίθετα, αρκετοί τύποι καρκίνου καταδεικνύουν αύξηση στην έκφραση ογκογόνων microRNA που στοχεύουν ειδικά γονίδια που είναι υπεύθυνα για την καταστολή όγκων ή γονιδίων που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA (Vannini et al., 2018). Η αυξημένη έκφραση αυτών των microRNAs μπορεί να διευκολύνει την εξέλιξη του καρκίνου καταστέλλοντας κρίσιμα συστήματα που εμποδίζουν την ανάπτυξη του όγκου. Οι αλλαγές στην έκφραση του microRNA συσχετίζονται συχνά με τη μεταστατική εξέλιξη του καρκίνου. Τα διαταραγμένα microRNA μπορούν να επηρεάσουν τις κυτταρικές διεργασίες που σχετίζονται με τη μετανάστευση, την εισβολή και την αγγειογένεση, προάγοντας επομένως τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένα όργανα (Palmero et al., 2011). Τα ειδικά για τον ιστό πρότυπα έκφρασης microRNA μπορούν να υποδεικνύουν τον ακριβή τύπο κυττάρου από τον οποίο προήλθε η κακοήθεια. Η σημασία του να λαμβάνεται υπόψη η ξεχωριστή σύνθεση microRNA κατά τη διερεύνηση διαφόρων τύπων καρκίνου τονίζεται από αυτήν την εξειδίκευση ιστού.



Εικόνα 3: *MicroRNAs που εμπλέκονται σε διάφορους τύπους καρκίνου (Cornelia Braicu, et al., 2013).*

3.1.2 Ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά πρότυπα

Μια ανάλυση της έκφρασης microRNA στον καρκίνο έχει αποκαλύψει σαφή πρότυπα που μπορούν γενικά να ταξινομηθούν σε ογκογόνες και ογκοκατασταλτικές λειτουργίες. Αυτά τα πρότυπα έχουν ζωτικό αντίκτυπο στον προσδιορισμό της συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων και των αλληλεπιδράσεών τους στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα microRNAs στον καρκίνο μπορούν να λειτουργήσουν ως ογκογονίδια διεγείροντας την ανάπτυξη όγκων και επιτρέποντας την εξέλιξη του καρκίνου. Τα ογκογόνα microRNAs γενικά επικεντρώνονται σε ογκοκατασταλτικά γονίδια ή γονίδια που σχετίζονται με ζωτικές βιολογικές δραστηριότητες (Wiemer, 2007). Αναστέλλουν την έκφραση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, τα οποία έχουν ρόλο στον έλεγχο της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και στην επιδιόρθωση του DNA. Η καθοδική ρύθμιση οδηγεί στην εξάντληση των

κρίσιμων ρυθμιστικών συστημάτων που περιορίζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και διευκολύνουν την εξέλιξη του καρκίνου.

Ένα πλήθος ογκογόνων microRNAs διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων στοχεύοντας επιλεκτικά γονίδια που εμποδίζουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου (Wiemer, 2007). Τα ογκογόνα microRNAs διευκολύνουν την ανεξέλεγκτη και γρήγορη κυτταρική διαίρεση στα καρκινικά κύτταρα αφαιρώντας τους ανασταλτικούς περιορισμούς. Επιπλέον, έχουν την ικανότητα να εμποδίζουν την απόπτωση, η οποία είναι μια φυσική διαδικασία κυτταρικού θανάτου που συνήθως σκοτώνει κατεστραμμένα ή ανεπιθύμητα κύτταρα, καταστέλλοντας γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση. Αυτό βοηθά τα καρκινικά κύτταρα να αποφύγουν τους μηχανισμούς που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο.

Τα ογκογόνα microRNA ενισχύουν τα επεμβατικά και μεταστατικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων επηρεάζοντας επιλεκτικά τα γονίδια που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και την αγγειογένεση. Αυτό προάγει τη διάδοση του καρκίνου σε απομακρυσμένες τοποθεσίες μέσα στο σώμα (Wiemer, 2007). Επιπλέον, τα ογκογόνα MicroRNA μπορούν να διεγείρουν την αγγειογένεση, η οποία είναι η διαδικασία σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων, στοχεύοντας συγκεκριμένα αντι-αγγειογενή μόρια. Η αυξημένη αγγείωση διευκολύνει τη συνεχή παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου για τη διατήρηση της επέκτασης του όγκου. Αντίθετα, τα microRNA με ογκοκατασταλτικές ιδιότητες ασκούν την επιρροή τους καταστέλλοντας ενεργά την ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου. Τα microRNA στοχεύουν συνήθως ογκογονίδια ή γονίδια που διευκολύνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εισβολή και την επιβίωση (Acunzo et al., 2015). Συχνά, εστιάζουν επιλεκτικά και καταστέλλουν τα ογκογονίδια, τα οποία είναι γονίδια που διεγείρουν την μη ρυθμισμένη ανάπτυξη των κυττάρων και το σχηματισμό όγκων, βοηθώντας στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων. Ένα παράδειγμα ογκογόνου miRNA είναι το miR-17-92. Η έκφρασή του είναι αυξημένη σε λεμφώματα και στο καρκίνο του πνεύμονα.

Τα ογκοκατασταλτικά microRNAs αναστέλλουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου στοχεύοντας γονίδια που προάγουν τον πολλαπλασιασμό. Καταστέλλοντας τη δραστηριότητα αυτών των γονιδίων, αυτά τα microRNAs επάγουν τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και εμποδίζουν τον υπερβολικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Wiemer, 2007). Επιπλέον, συμβάλλουν στην απόπτωση στοχεύοντας επιλεκτικά γονίδια που αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο ή προάγοντας μονοπάτια που προκαλούν κυτταρικό θάνατο. Αυτό εγγυάται ότι τα κύτταρα που είναι κατεστραμμένα ή παρεκκλίνοντα περνούν από τη διαδικασία

προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Τα miRNA της οικογένειας let-7 είναι ένα παράδειγμα ογκοκατασταλτικών miRNA. Αυτά ρυθμίζουν την έκφραση ογκογονιδίων όπως το Ras.

Επιπλέον, τα MicroRNAs που περιορίζουν την ανάπτυξη του όγκου εμποδίζουν την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να εξαπλώνονται και να σχηματίζουν δευτερογενείς όγκους στοχεύοντας επιλεκτικά γονίδια που ρυθμίζουν την κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και τη διαδικασία μετάβασης από μια επιθηλιακή σε μια μεσεγχυματική κατάσταση (EMT). Το EMT, ή επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση, είναι μια βιολογική διαδικασία που επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να αποκτήσουν την ικανότητα να εισβάλλουν στους περιβάλλοντες ιστούς (Shen et al., 2019). Επιπλέον, τα microRNAs με ογκοκατασταλτικές ιδιότητες μπορούν να αναστείλουν την αγγειογένεση στοχεύοντας συγκεκριμένα συστατικά που προάγουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων. Αναστέλλοντας την αγγειογένεση, μειώνουν την ικανότητα του όγκου να παίρνει απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο.

Η διατήρηση της φυσιολογικής κυτταρικής ομοιόστασης βασίζεται στη λεπτή ισορροπία μεταξύ ογκογονικών και ογκοκατασταλτικών προτύπων microRNA. Η απορρύθμιση αυτής της ισορροπίας, όπως η υπερέκφραση ογκογόνων microRNA ή η μείωση της ρύθμισης των ογκοκατασταλτικών, συμβάλλει στη γένεση και την εξέλιξη του καρκίνου (Palmero et al., 2011). Τέλος, η αλληλεπίδραση μεταξύ των microRNA και των γονιδίων-στόχων τους σχηματίζει πολύπλοκα ρυθμιστικά δίκτυα που επηρεάζουν τη βιολογία του καρκίνου. Η διακοπή αυτών των δικτύων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τον απεριόριστο πολλαπλασιασμό και τη βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων.

3.2 Επίδραση στον καρκίνο

3.2.1 MicroRNA στην εξέλιξη του καρκίνου

Τα microRNAs παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου, ρυθμίζοντας διάφορες φάσεις σχηματισμού όγκου, εισβολής και μετάστασης. Η απορρύθμισή τους μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις μοριακές οδούς που προωθούν την ανάπτυξη του καρκίνου (Vannini et al., 2018). Αναλυτικότερα, τα microRNAs παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου συμβάλλοντας στην έναρξη και την εξέλιξη της καρκινογένεσης. Τα διαταραγμένα microRNAs μπορούν να προκαλέσουν τη μετατροπή υγιών κυττάρων σε κακοήγη, παρεμβαίνοντας σε κρίσιμες ρυθμιστικές διαδικασίες. Συχνά, επικεντρώνονται επιλεκτικά σε ογκοκατασταλτικά γονίδια, τα οποία παίζουν κρίσιμο ρόλο στον περιορισμό του

κυτταρικού πολλαπλασιασμού και στη διευκόλυνση της διακοπής του κυτταρικού κύκλου και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Garzon et al., 2009). Η παρεμβολή microRNA οδηγεί σε μείωση της ρύθμισης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, που είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα του καρκίνου (Mehterov, 2023).

Τα microRNAs έχουν επίσης σημαντική λειτουργία στη διατήρηση της σηματοδότησης που προάγει την κυτταρική ανάπτυξη, η οποία είναι βασικό χαρακτηριστικό της ανάπτυξης καρκίνου (Mehterov, 2023). Τα συγκεκριμένα microRNAs έχουν την ικανότητα να διεγείρουν μονοπάτια που προκαλούν καρκίνο στοχεύοντας και καταστέλλοντας επιλεκτικά παράγοντες που εμποδίζουν την πορεία του κυτταρικού κύκλου και της ανάπτυξης. Αυτά τα microRNAs ενισχύουν την ενεργοποίηση γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, διευκολύνοντας έτσι τη συνεχή ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων.

Ένας άλλος κρίσιμος παράγοντας στην πρόοδο του καρκίνου είναι η ικανότητα αποφυγής αναστολέων ανάπτυξης και ανάπτυξης αντίστασης στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Τα microRNAs που καταστέλλουν τα γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση μπορεί να εμποδίσουν την εμφάνιση προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στα καρκινικά κύτταρα (Acunzo et al., 2015). Αυτή η αποφυγή της απόπτωσης επιτρέπει την επιβίωση και την επιμονή των καρκινικών κυττάρων μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου. Τα microRNAs διαδραματίζουν επίσης ρόλο στην πορεία του καρκίνου επηρεάζοντας την εισβολή και τη μετάσταση, που είναι κρίσιμες διαδικασίες. Τα microRNAs έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και τη μετάβαση από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό τύπο (EMT). Το EMT, ή η επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση, είναι μια βιολογική διαδικασία που επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να αποκτήσουν την ικανότητα να εισβάλουν σε κοντινούς ιστούς και να αναπτύξουν επεμβατικές ιδιότητες (Acunzo et al., 2015). Τα διαταραγμένα microRNAs μπορούν να ενισχύσουν την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), επιταχύνοντας έτσι την εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες τοποθεσίες και ενθαρρύνοντας τη μετάσταση.

Τα microRNA παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σηματοδότησης που προωθεί την κυτταρική ανάπτυξη, η οποία είναι βασικό χαρακτηριστικό της ανάπτυξης καρκίνου (Vannini et al., 2018). Ειδικά microRNAs διεγείρουν καρκινογόνες οδούς στοχεύοντας και καταστέλλοντας επιλεκτικά τους αναστολείς της εξέλιξης και του πολλαπλασιασμού του

κυτταρικού κύκλου. Αυτό διευκολύνει την ενεργοποίηση γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, συμβάλλοντας ως εκ τούτου στην αδιάκοπη επέκταση των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, τα microRNAs έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την αγγειογένεση, μια ζωτική φάση στην πρόοδο του καρκίνου (Mehteron, 2023). Στόχος τους είναι να μπλοκάρουν και να καταστείλουν επιλεκτικά ουσίες που εμποδίζουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων, προάγοντας επομένως την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων στο περιβάλλον του όγκου. Η αυξημένη αγγείωση εγγυάται τη συνεχή παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου για τη διατήρηση του πολλαπλασιασμού και της βιωσιμότητας των καρκινικών κυττάρων (Di Leva et al., 2014). Πολύπλοκα ρυθμιστικά δίκτυα που επηρεάζουν την εξέλιξη του καρκίνου σχηματίζονται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των microRNAs και των γονιδίων-στόχων τους. Η διακοπή αυτών των δικτύων μπορεί να οδηγήσει σε μη ρυθμισμένο πολλαπλασιασμό και βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων, επιδεινώνοντας την κατάσταση.

Η απόκτηση γνώσεων σχετικά με τις λειτουργίες των microRNAs στην πρόοδο του καρκίνου είναι ζωτικής σημασίας για την πρόοδο εστιασμένων θεραπειών (Shen et al., 2019). Οι επιστήμονες ερευνούν μεθόδους για την ανανέωση της δραστηριότητας των microRNAs που καταστέλλουν τους όγκους ή εμποδίζουν αυτούς που προάγουν τον καρκίνο, προκειμένου να σταματήσουν την εξέλιξη του καρκίνου και να ενισχύσουν τα αποτελέσματα για τους ασθενείς. Ο εκκολαπτόμενος τομέας των θεραπειών που βασίζονται σε microRNAs παρουσιάζει δυνατότητες για ενισχυμένες και εξατομικευμένες θεραπείες καρκίνου στο μέλλον. Παρακάτω αναλύεται ο ρόλος κάποιων συγκεκριμένων miRNA σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου.

Οικογένεια miR-200

Η οικογένεια miR-200 είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετάβασης, ενός βασικού μηχανισμού στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου (Muralidhar & Barbolina, 2015). Η λειτουργία τους σε αυτό το πλαίσιο περιλαμβάνει τη ρύθμιση των ZEB1 και ZEB2, οι οποίοι είναι μεταγραφικοί παράγοντες που αναστέλλουν την παραγωγή της E-καντερίνης, οδηγώντας στην προώθηση της EMT.

Έρευνες έχουν καταδείξει ότι τα μέλη της οικογένειας miR-200, συμπεριλαμβανομένων των miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 και miR-429, συνδέονται ειδικά στις 3' αμετάφραστες περιοχές (UTR) των mRNAs ZEB1 και ZEB2, με αποτέλεσμα τη διάσπαση ή την αναστολή της μετάφρασης. Οι miR-200 περιορίζουν την υπορρύθμιση της E-καδερίνης

καταστέλλοντας την έκφραση των ZEB1 και ZEB2, γεγονός που συμβάλλει στη διατήρηση των χαρακτηριστικών των επιθηλιακών κυττάρων και στην αποτροπή της μετάβασης σε μεσεγχυματικό φαινότυπο.

MiR-155 στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού

Το miR-155, ένα microRNA, έχει μια πολύπλευρη και προφανώς αντικρουόμενη λειτουργία στην πρόοδο του καρκίνου του μαστού. Αρχικά ταξινομημένο ως ογκογονίδιο για την ενθάρρυνση της ανάπτυξης και της επιθετικότητας του όγκου, οι τρέχουσες μελέτες δείχνουν ότι μπορεί επίσης να έχει αντιογκογόνες ιδιότητες σε ορισμένες περιπτώσεις (Xue et al., 2014). Το MiR-155 ενισχύει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στοχεύοντας ογκοκαταστολείς όπως το SHIP1 και το FOXO3a. Αποτρέπει τον κυτταρικό θάνατο δρώντας στην προ-αποπτωτική πρωτεΐνη BIM. Το MiR-155 προάγει τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων στοχεύοντας γονίδια που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση και την αναδιαμόρφωση της εξωκυτταρικής μήτρας, διευκολύνοντας την εισβολή και τη μετάσταση. Μπορεί επίσης να διευκολύνει την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση, βοηθώντας στην εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων σε άλλα μέρη του σώματος. Η miR-155 στοχεύει άμεσα και μειώνει την έκφραση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου TP53INP1, το οποίο έχει ρόλο στην καταστολή της EMT. Η miR-155 ενισχύει έμμεσα την εισβολή και τη μετάσταση του όγκου αναστέλλοντας το TP53INP1, άρα προάγοντας την EMT. Επιπλέον, η miR-155 έχει συνδεθεί με τη στόχευση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην προσκόλληση κυττάρων-κυττάρων, όπως η E-καντερίνη (Liu et al., 2015). Η MiR-155 αποσταθεροποιεί τις συνδέσεις προσκόλλησης μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων μειώνοντας την έκφραση της E-καντερίνης, γεγονός που οδηγεί σε διαχωρισμό των κυττάρων από την αρχική μάζα του όγκου και ενισχύει την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή.

Η αγγειογένεση προωθείται από το miR-155 μέσω της αναστολής αντι-αγγειογενετικών παραγόντων όπως η θρομβοσπονδίνη-1, που μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξη του όγκου ενθαρρύνοντας την παραγωγή νέων αιμοφόρων αγγείων (Xue et al., 2014). Η καταστολή του ανοσοποιητικού συμβαίνει όταν το miR-155 αναστέλλει τις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις στοχεύοντας γονίδια σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος όπως το PD-L1, βοηθώντας ενδεχομένως τους όγκους να αποφύγουν την ανοσολογική παρακολούθηση.

Ορισμένες μελέτες προτείνουν ότι το miR-155 που παράγεται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στο μικροπεριβάλλον του όγκου μπορεί να προσελκύει κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα, βοηθώντας έτσι στην εξάλειψη του όγκου. Το MiR-155 μπορεί να παίζει ρόλο στη διατήρηση της κατάστασης ηρεμίας του όγκου σε ορισμένους όγκους του μαστού, αναστέλλοντας την πρόωμη διάδοσή τους (Xue et al., 2014). Τα αυξημένα επίπεδα miR-155 στους ιστούς του καρκίνου του μαστού συνδέονται συχνά με δυσμενή πρόγνωση, όπως μειωμένα ποσοστά επιβίωσης και προχωρημένα στάδια της νόσου. Η εικόνα είναι περίπλοκη και η λειτουργία της μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον τύπο του όγκου και τις περιστάσεις. Οι ογκογόνες λειτουργίες το υποδηλώνουν ως πιθανό στόχο θεραπείας, αλλά απαιτείται μεγαλύτερη έρευνα για να κατανοηθούν οι αντιογκογόνες ιδιότητές του προτού η στόχευσή του είναι πρακτική.

Ωστόσο, η σημασία του miR-155 στον καρκίνο του μαστού αποτελεί αντικείμενο έντονης διαμάχης λόγω των αντιφατικών αποτελεσμάτων και των περίπλοκων μικροπεριβαλλόντων όγκου. Η λειτουργία της πρωτεΐνης αναμένεται να διαφέρει βάσει του υποτύπου και του σταδίου του καρκίνου του μαστού, καθώς και άλλων παραγόντων, γεγονός που περιπλέκει την ικανότητα να γίνουν ευρείες γενικεύσεις σχετικά με τη συνολική επίδρασή του. Απαιτείται πρόσθετη μελέτη για την ολοκληρωμένη κατανόηση των πολύπλοκων χαρακτηριστικών του miR-155 στην πρόοδο του καρκίνου του μαστού και τη βιωσιμότητά του ως θεραπευτική εστίαση.

MiR-10b στην εξέλιξη του καρκίνου του παγκρέατος

Το miR-10b, ένα microRNA, παίζει κρίσιμο και πολύπλοκο ρόλο στην πρόοδο του καρκίνου του παγκρέατος, επιδεικνύοντας διπλή ικανότητα είτε να ενθαρρύνει είτε να αναστέλλει τον σχηματισμό όγκου ανάλογα με την κατάσταση (Fernandez et al., 2015). Αρχικά, το miR-10b προάγει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος επηρεάζοντας πολλαπλούς καταστολείς όγκου όπως το PTEN, το CDKN1A (p21) και το HOXA5. Επιπλέον, αναστέλλει την απόπτωση δρώντας ειδικά σε προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες όπως BIM και BIK. Επιπλέον, το miR-10b ενισχύει την κίνηση και τη διείσδυση των κυττάρων εστιάζοντας σε γονίδια που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση και την αναδόμηση της εξωκυτταρικής μήτρας. Μπορεί επίσης να προάγει την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), επομένως βοηθά στην εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων.

Επιπλέον, το miR-10b προάγει την αγγειογένεση αναστέλλοντας αντι-αγγειογενείς παράγοντες συμπεριλαμβανομένης της θρομβοσπονδίνης-1, που μπορεί να διευκολύνει την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων και ίσως να βοηθήσει στην ανάπτυξη του όγκου. Ενισχύει επίσης την αντοχή στα φάρμακα εστιάζοντας στα γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φαρμάκων και στις αποπτωτικές οδούς (Fernandez et al., 2015). Με τρόπο παρόμοιο με το miR-155 στον καρκίνο του μαστού, η έκφραση του miR-10b από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος μπορεί να έχει ρόλο στην προώθηση αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Επιπλέον, θα μπορούσε να συμβάλει στη διατήρηση ορισμένων όγκων του παγκρέατος αδρανείς, αναστέλλοντας έτσι την ταχεία διάδοσή τους.

Τα υψηλά επίπεδα miR-10b στους ιστούς του καρκίνου του παγκρέατος συνδέονται συχνά με αρνητικά αποτελέσματα, όπως μειωμένα ποσοστά επιβίωσης και πιο προχωρημένα στάδια της νόσου (Fernandez et al., 2015). Παρόμοια με το miR-155, ο ρόλος αυτού του μορίου είναι περίπλοκος και μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του όγκου και το πλαίσιο. Αν και οι ογκογόνες ιδιότητές του δείχνουν δυναμικό ως στόχο θεραπείας, τα ογκοκατασταλτικά χαρακτηριστικά του απαιτούν περισσότερη διερεύνηση πριν η στόχευση μπορεί να θεωρηθεί εφικτή.

Ωστόσο, τα εμπόδια και οι διαμάχες συνεχίζονται. Η κατανόηση του ρόλου του miR-10b στον καρκίνο του παγκρέατος είναι πρόκληση λόγω των αντιφατικών αποτελεσμάτων και της περίπλοκης φύσης των μικροπεριβαλλόντων του όγκου. Η λειτουργία της πρωτεΐνης πιθανότατα αλλάζει ανάλογα με τον υποτύπο και το στάδιο του καρκίνου του παγκρέατος, καθώς και άλλες περιστάσεις, καθιστώντας δύσκολο τον προσδιορισμό της συνολικής επίδρασής του με γενικό τρόπο. Απαιτείται πρόσθετη έρευνα για την πλήρη κατανόηση των πολύπλοκων χαρακτηριστικών του miR-10b στην πρόοδο του καρκίνου του παγκρέατος και των δυνατοτήτων του ως στόχου θεραπείας.

MiR-21 στην εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου

Κατά την εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου (CRC), το miR-21, ένα σύντομο μη κωδικοποιητικό RNA, έχει έναν πολύπλοκο και ποικίλο ρόλο (Villanueva, 2010). Η συμμετοχή του μπορεί να συνοψιστεί ως εξής: Όσον αφορά τον καρκινογόνο ρόλο του, το miR-21 επηρεάζει πολλαπλές πτυχές:

- Προωθεί την κυτταρική ανάπτυξη επηρεάζοντας τους καταστολείς όγκου όπως το PTEN και το PDCD4 και αναστέλλει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο επηρεάζοντας τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες όπως το BIM και το CASP3.
- Το miR-21 προάγει την εισβολή και τη μετάσταση αυξάνοντας τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων μέσω της στόχευσης γονιδίων που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση και την αναδιαμόρφωση της εξωκυτταρικής μήτρας. Επιπλέον, διεγείρει την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), έναν κρίσιμο μηχανισμό για μετάσταση.
- Επιπλέον, το miR-21 προάγει την αγγειογένεση, τη διαδικασία σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων που είναι απαραίτητα για την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στους όγκους, δρώντας ειδικά σε αντι-αγγειογενείς πρωτεΐνες όπως η TIMP3.
- Βοηθά στην ανοσολογική διαφυγή αναστέλλοντας τις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις μέσω της στόχευσης πολλών γονιδίων ανοσολογικών σημείων ελέγχου.

Από κλινική άποψη, το miR-21 είναι επίσης πολύ σημαντικό. Τα αυξημένα επίπεδα miR-21 στους ιστούς του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι ενδεικτικά κακής πρόγνωσης, που σχετίζεται με μειωμένη συνολική επιβίωση, αυξημένα ποσοστά υποτροπής και πιο προχωρημένα στάδια της νόσου. Επιπλέον, το miR-21 είναι ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος στη διαχείριση του CRC. Διάφορες τεχνικές διερευνώνται, συμπεριλαμβανομένων των ολιγονουκλεοτιδίων αντι-miR-21, γονιδιακής θεραπείας και μικρών ενώσεων. Αυτές οι μέθοδοι στοχεύουν στην αναστολή του miR-21 για να παρέχουν πιθανώς τρόπους για την επιτυχή πρόληψη ή θεραπεία.

3.2.2 Μεταστατική επιρροή

Η εξάπλωση του καρκίνου σε απομακρυσμένες περιοχές, γνωστή ως μετάσταση, είναι ένα περίπλοκο και πολυδιάστατο φαινόμενο που αποτελεί ουσιαστικό εμπόδιο στη διαχείριση του καρκίνου. Τα microRNAs έχουν αναγνωριστεί ως βασικοί ρυθμιστές της μεταστατικής συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων. Σε αυτή τη μελέτη, διερευνούμε την κρίσιμη λειτουργία των microRNAs στη διαδικασία της μετάστασης και την επιρροή τους στην εξέλιξη του καρκίνου (Lynam-Lennon et al., 2009). Η μετάσταση είναι η διαδικασία με την οποία τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται από τον αρχικό όγκο σε άλλα όργανα ή ιστούς του σώματος, όπου σχηματίζουν νέους όγκους. Τα MicroRNAs διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο σε αυτή τη διαδικασία ρυθμίζοντας διάφορες σημαντικές διεργασίες.

Τα microRNAs διέπουν την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να ταξιδεύουν και να διεισδύουν σε παρακείμενους ιστούς, ελέγχοντας έτσι τη μετανάστευση και την εισβολή (Han et al., 2020). Τα συγκεκριμένα microRNAs έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τη δραστηριότητα των γονιδίων που σχετίζονται με την κυτταρική κίνηση και τη δομή του εσωτερικού πλαισίου του κυττάρου, διευκολύνοντας έτσι την κίνηση των καρκινικών κυττάρων μακριά από την αρχική θέση του όγκου (Stahlhut Espinosa & Slack, 2006). Επιπλέον, τα microRNAs έχουν την ικανότητα να ενισχύουν τα διεισδυτικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων, προάγοντας έτσι τη διήθησή τους στην εξωκυτταρική μήτρα και στους παρακείμενους ιστούς.

Η μετάβαση από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό (EMT) είναι μια κρίσιμη διαδικασία στη μετάσταση, επιτρέποντας στα καρκινικά κύτταρα να αποκτήσουν μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά, όπως ενισχυμένη κινητικότητα και διεισδυτικότητα (Han et al., 2020). Τα microRNAs μπορούν να ρυθμίσουν την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) στοχεύοντας επιλεκτικά γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση του EMT. Ορισμένα microRNAs αναστέλλουν την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), ενώ άλλα την διεγείρουν, ανάλογα με τις περιστάσεις και τα συγκεκριμένα γονίδια-στόχους που εμπλέκονται.

Η ενδοαγγείωση και η εξαγγείωση είναι κρίσιμα στάδια στη διαδικασία της μετάστασης του καρκίνου. Η ενδοαγγείωση αναφέρεται στη διείσδυση καρκινικών κυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος, ενώ η εξαγγείωση αναφέρεται στην επακόλουθη μετακίνησή τους από την κυκλοφορία του αίματος σε μακρινά όργανα (Lynam-Lennon et al., 2009). Τα MicroRNAs

μπορούν να επηρεάσουν αυτές τις διεργασίες ρυθμίζοντας τις συνδέσεις μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων που σχηματίζουν την εσωτερική επένδυση των αιμοφόρων αγγείων. Έχουν την ικανότητα να ελέγχουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης, τα οποία μπορούν είτε να ενθαρρύνουν είτε να εμποδίσουν την προσκόλληση καρκινικών κυττάρων στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων.

Τα καρκινικά κύτταρα αντιμετωπίζουν πολλά εμπόδια στην κυκλοφορία του αίματος, όπως μηχανικές πιέσεις διάτμησης, ανοσολογική επιτήρηση και ανοικτές (κυτταρικός θάνατος που προκαλείται από αποκόλληση) (Lynam-Lennon et al., 2009). Τα microRNAs ενισχύουν την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων ελέγχοντας τη δραστηριότητα των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο, την αποφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος και την προσαρμογή στις σκληρές συνθήκες της κυκλοφορίας του αίματος.

Ο εξωαγγειακός αποικισμός συμβαίνει όταν τα καρκινικά κύτταρα μεταναστεύουν με επιτυχία σε μακρινά όργανα και υφίστανται προσαρμογές για να ευδοκιμήσουν στο νέο περιβάλλον, οδηγώντας τελικά στην ανάπτυξη πρόσθετων όγκων. Τα microRNAs συμβάλλουν σε αυτή τη διαδικασία διαμορφώνοντας τις συνδέσεις μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των στρωματικών κυττάρων του οργάνου ξενιστή (Cowland et al., 2007). Έχουν την ικανότητα να ελέγχουν τη δραστηριότητα των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αναδιαμόρφωση των ιστών, την αγγειογένεση και την ανοσολογική ρύθμιση. Αυτό τους δίνει τη δυνατότητα να διευκολύνουν την εγκατάσταση αποικιών σε απομακρυσμένες τοποθεσίες.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του μικροπεριβάλλοντος παίζει καθοριστικό ρόλο στην εξάπλωση του καρκίνου σε άλλα μέρη του σώματος (Stahlhut Espinosa & Slack, 2006). Τα microRNAs μπορούν να διευκολύνουν αυτή την αλληλοεπικοινωνία ρυθμίζοντας την απελευθέρωση μορίων σηματοδότησης, όπως αυξητικούς παράγοντες, κυτοκίνες και εξωσώματα, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τη συμπεριφορά τόσο των καρκινικών όσο και των στρωματικών κυττάρων στο μεταστατικό μικροπεριβάλλον. Ορισμένες κακοήθειες έχουν μεταστατικές προτιμήσεις ειδικών οργάνων, οι οποίες μπορεί να επηρεαστούν από τη συμβολή συγκεκριμένων microRNAs (Stahlhut Espinosa & Slack, 2006). Τα microRNAs θα μπορούσαν να διευκολύνουν την προσαρμογή των καρκινικών κυττάρων στο ξεχωριστό μικροπεριβάλλον συγκεκριμένων οργάνων, αυξάνοντας έτσι την ικανότητά τους να αποικίζονται και να πολλαπλασιάζονται σε αυτές τις θέσεις.

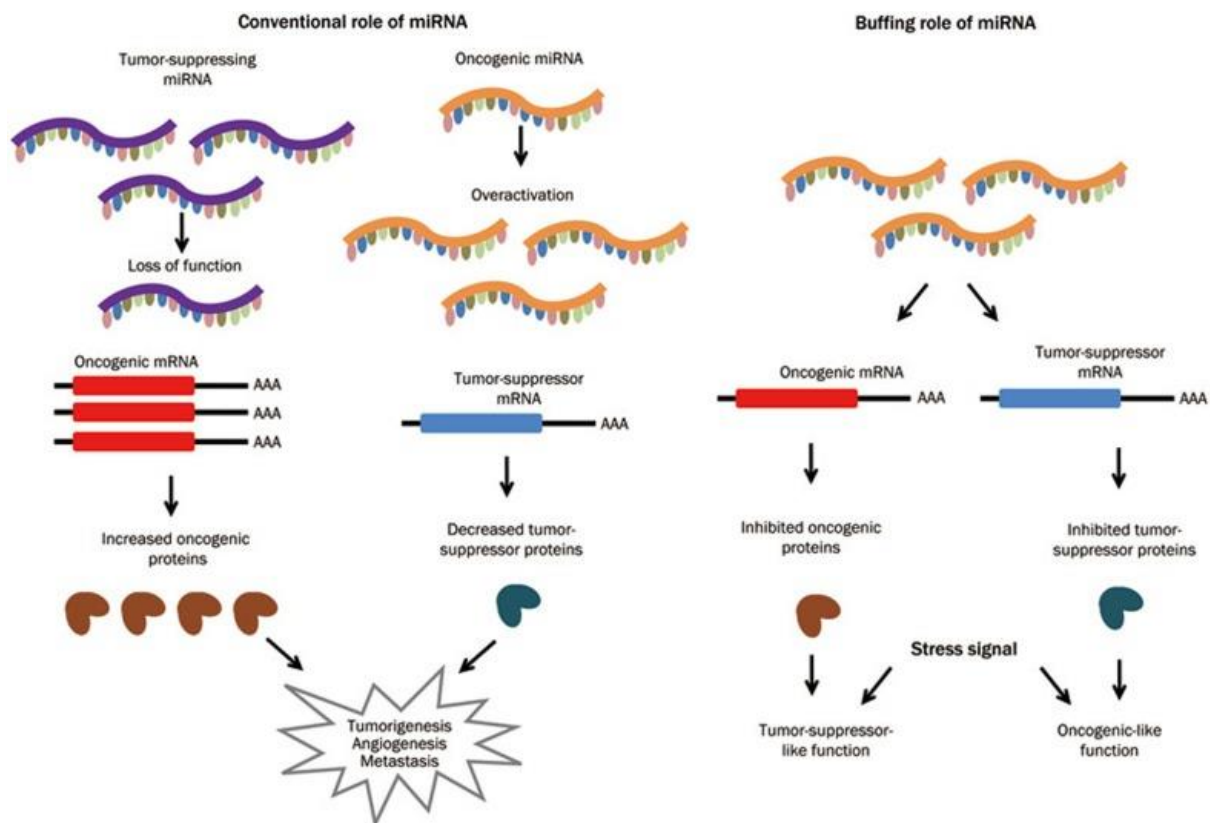
Η κατανόηση των πολύπλοκων λειτουργιών των microRNAs στη μετάσταση είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών μεθόδων που εμποδίζουν αυτό το βασικό στάδιο στην εξέλιξη του καρκίνου. Οι επιστήμονες μελετούν επί του παρόντος μεθόδους για τον έλεγχο της έκφρασης ή της λειτουργίας του microRNA προκειμένου να εμποδίσουν την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να εξαπλωθούν σε άλλα μέρη του σώματος.

3.3 Λειτουργικοί Μηχανισμοί

3.3.1 Πώς τα MicroRNA συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου

Τα microRNAs παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου, επηρεάζοντας αρκετά στοιχεία σχηματισμού όγκων (Han et al., 2020). Αυτά τα μικροσκοπικά μόρια RNA έχουν πολύπλοκους ρόλους στο συντονισμό των μοριακών γεγονότων που οδηγούν την έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου. Αυτή η ενότητα διερευνά τον ρόλο των microRNAs στο σχηματισμό καρκίνου, δίνοντας έμφαση στην ποικιλόμορφη και σημαντική επιρροή τους.

Απορρύθμιση γονιδιακής έκφρασης: Τα microRNAs χρησιμεύουν κυρίως ως μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Η μη ισορροπημένη έκφραση του microRNA μπορεί να προκαλέσει την ανώμαλη αναστολή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, τα οποία είναι απαραίτητα για τη διατήρηση των τακτικών κυτταρικών δραστηριοτήτων (Uzuner et al., 2022). Η σίγαση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων από τα microRNAs μπορεί να οδηγήσει σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και διαίρεση των κυττάρων, που είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα του καρκίνου.

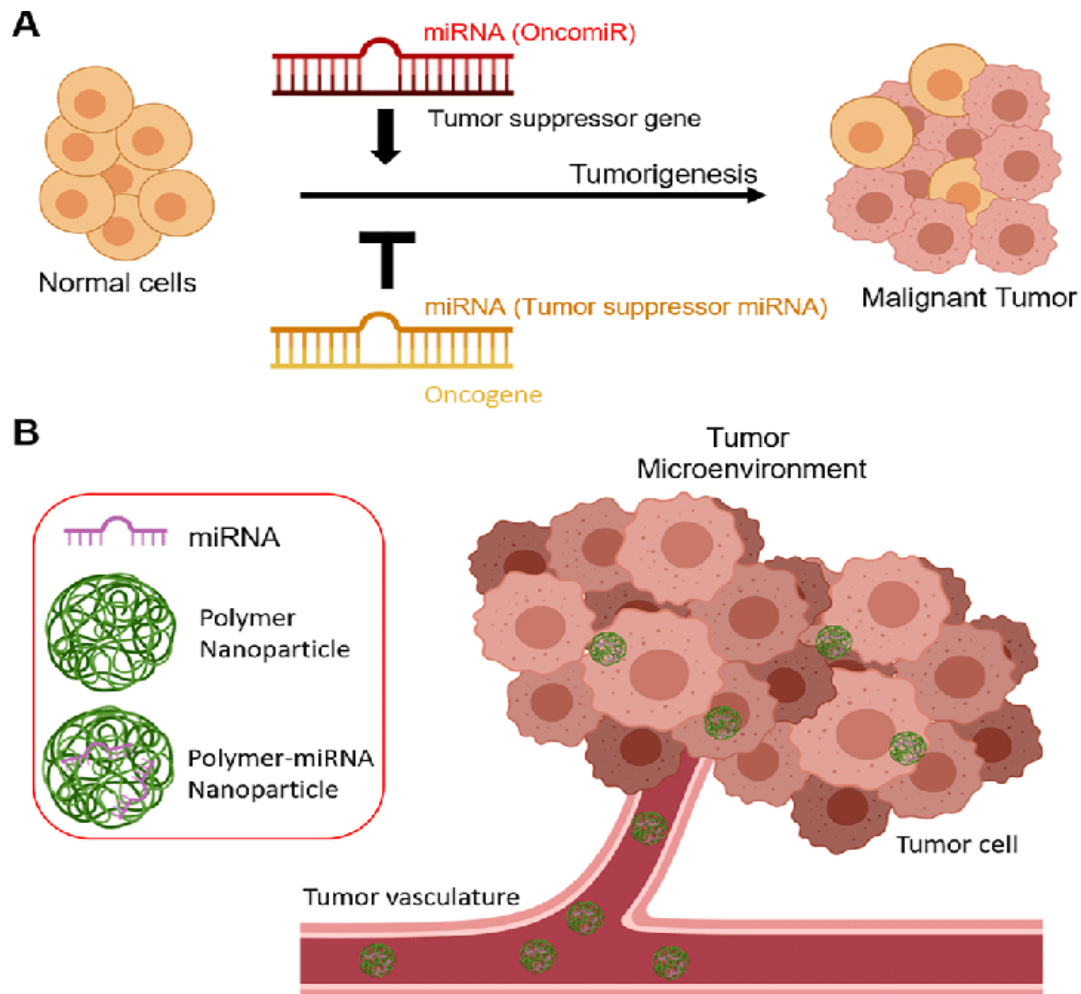


Εικόνα 4: Ο ρόλος του *microRNA* στον καρκίνο. Αύξηση των ογκογονιδίων και μείωση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων οδηγεί σε καρκίνο. Ένας μεμονωμένος τύπος *miRNA* μπορεί να δρά είτε ως ογκογονίδιο είτε ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου (Li & Yang, 2013)

Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός μπορεί να προωθηθεί από τα *microRNAs*, οδηγώντας στη διέγερση της ανάπτυξης καρκίνου (Uzuner et al., 2022). Ειδικά *microRNAs* δεσμεύονται επιλεκτικά και καταστέλλουν ανασταλτικούς παράγοντες του κυτταρικού κύκλου, διευκολύνοντας έτσι την επιταχυνόμενη εξέλιξη των καρκινικών κυττάρων μέσω του κυτταρικού κύκλου. Ο επιταχυνόμενος ρυθμός κυτταρικής διαίρεσης προσθέτει στη μεγέθυνση της μάζας του όγκου.

Η απόπτωση, γνωστή και ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, είναι μια σημαντική διαδικασία για την απομάκρυνση των κυττάρων που είναι κατεστραμμένα ή διαταραγμένα. Η αναστολή της απόπτωσης αναφέρεται στην πρόληψη αυτής της διαδικασίας. Τα μη ρυθμισμένα *microRNAs* μπορούν να διαταράξουν την αποπτωτική διαδικασία στοχεύοντας ειδικά γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση της απόπτωσης (Lynam-Lennon et al., 2009). Η καταστολή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, γνωστή ως απόπτωση, επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να αποφύγουν τη δική τους εξαφάνιση, ενισχύοντας έτσι την ικανότητά τους να επιβιώνουν και τελικά οδηγούν στην εξέλιξη του καρκίνου.

Η έναρξη της αγγειογένεσης είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των όγκων, καθώς βασίζεται στην ανάπτυξη φρέσκων αιμοφόρων αγγείων. Τα microRNAs μπορούν να ενισχύσουν το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων στοχεύοντας και μειώνοντας ειδικά την έκφραση στοιχείων που αναστέλλουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων (Takasaki, 2015). Ως αποτέλεσμα, υπάρχει μια αυξημένη ανάπτυξη αιμοφόρων αγγείων στο μικροπεριβάλλον του όγκου, που εγγυάται μια συνεχή παροχή τροφής και οξυγόνου για τη διευκόλυνση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων.



Εικόνα 5: (A) Οι λειτουργίες των *microRNAs* (*miRNAs*) στον καρκίνο. Τα *miRNA* μπορούν είτε να αναστείλουν είτε να ενεργοποιήσουν γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο με βάση το συγκεκριμένο γονίδιο στόχο. (B) Θεραπευτική στρατηγική που περιλαμβάνει νανοσωματίδια πολυμερούς φορτωμένα με *microRNA* που κυκλοφορούν στο μικροπεριβάλλον του όγκου (Lee et al., 2019).

Τα microRNAs παίζουν επίσης μια κρίσιμη λειτουργία στην ενθάρρυνση της εισβολής και της μετάστασης του καρκίνου (Chan et al., 2011). Μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και τη μετάβαση από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό (EMT) (Huang & He, 2011). Το EMT είναι μια διαδικασία που επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να αναπτύξουν επεμβατικές ιδιότητες, προωθώντας την εξάπλωσή τους σε απομακρυσμένα μέρη του σώματος.

Τα microRNAs έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με αναγνωρισμένα ογκογόνα μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένων των οδών σηματοδότησης PI3K/AKT και MAPK. Τα MicroRNA μπορούν να ενισχύσουν τη συνεχή ενεργοποίηση της σηματοδότησης που προκαλεί καρκίνο εστιάζοντας σε σημαντικά στοιχεία αυτών των μονοπατιών, υποστηρίζοντας έτσι την ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου.

Επιγενετική ρύθμιση: Εκτός από τη μετα-μεταγραφική ρύθμιση, τα microRNAs μπορούν επίσης να επηρεάσουν τις επιγενετικές αλλοιώσεις στα καρκινικά κύτταρα. Στοχεύοντας γονίδια που εμπλέκονται στη μεθυλίωση του DNA και στα μονοπάτια τροποποίησης ιστόνης, μπορούν να τροποποιήσουν το επιγενετικό τοπίο των καρκινικών κυττάρων. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να προκαλέσουν περαιτέρω καρκίνο αλλάζοντας τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης (Takasaki, 2015). Έπειτα, τα microRNAs δημιουργούν περίπλοκα ρυθμιστικά δίκτυα εμπλέκοντας σε διαφωνία μεταξύ τους και με άλλα βιολογικά μονοπάτια. Η διακοπή αυτού του πολύπλοκου δικτύου μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της εσωτερικής ισορροπίας στα υγιή κύτταρα και να συμβάλει στην εμφάνιση καρκίνου.

Η απόκτηση γνώσης για το ρόλο των microRNAs στο σχηματισμό καρκίνου είναι ζωτικής σημασίας για την πρόοδο στοχευμένων θεραπευτικών μεθόδων (Takasaki, 2015). Οι επιστήμονες ερευνούν τώρα μεθόδους για τον έλεγχο της έκφρασης ή της δραστηριότητας του microRNA σε καρκινικά κύτταρα, προκειμένου να παρεμποδίσουν τις καρκινογενείς δράσεις τους. Στο μέλλον, η χρήση θεραπειών που βασίζονται σε MicroRNA δείχνει δυνατότητες για πιο ακριβείς και εξατομικευμένες θεραπείες για τον καρκίνο.

3.3.2 Αλληλεπιδράσεις με Ογκογόνες Οδούς

Τα microRNAs παίζουν ζωτικό ρόλο στο σχηματισμό καρκίνου αλληλεπιδρώντας με ογκογόνες οδούς. Αυτά τα μικροσκοπικά μόρια RNA αλληλεπιδρούν με καθιερωμένους καταρράκτες σηματοδότησης που προάγουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Αυτή η ενότητα διερευνά τις περίπλοκες σχέσεις μεταξύ των microRNAs και των ογκογόνων οδών, τονίζοντας τον κρίσιμο ρόλο τους στη διευκόλυνση της εξέλιξης του καρκίνου.

Η οδός της φωσφοϊνοσιτιδικής 3-κινάσης (PI3K) και της πρωτεϊνικής κινάσης B (AKT) είναι ένα κρίσιμο σύστημα σηματοδότησης που παίζει βασικό ρόλο στην κυτταρική ανάπτυξη, επιβίωση και μεταβολισμό (Huang & He, 2011). Η μη φυσιολογική ενεργοποίηση αυτής της οδού είναι ένα διαδεδομένο χαρακτηριστικό σε πολλούς τύπους καρκίνου. Τα microRNAs έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν άμεσα σημαντικά στοιχεία της οδού PI3K/AKT, συμπεριλαμβανομένων των PI3K, AKT και mTOR, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη ρύθμιση της λειτουργίας του.

Το miR-34a διερευνάται ευρέως για την αλληλεπίδρασή του με μονοπάτια που προκαλούν καρκίνο, συγκεκριμένα μέσω της στόχευσης του mRNA του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 (Slabáková et al., 2017). Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί σε μειωμένη σύνθεση της πρωτεΐνης p53. Το μονοπάτι p53 χρησιμεύει ως ζωτικό σημείο ελέγχου στον κυτταρικό κύκλο, επιβλέποντας την ανάπτυξη των κυττάρων και βοηθώντας στην επιδιόρθωση του DNA. Οι δυσλειτουργίες ή οι μεταβολές της p53 είναι συχνές σε διάφορους τύπους κακοήθειας, επιτρέποντας την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων.

Ο μηχανισμός συνεπάγεται τη μείωση της έκφρασης του miR-34a στα καρκινικά κύτταρα ως αποτέλεσμα διαφόρων αιτιών. Η μειωμένη έκφραση του miR-34a οδηγεί σε χαμηλότερη μετάφραση του p53, αποδυναμώνοντας την ικανότητά του να αναστέλλει τους όγκους. Η περίπτωση αυτή αναδεικνύει τον τρόπο με τον οποίο οι αλληλεπιδράσεις των microRNAs με μονοπάτια που προκαλούν καρκίνο μπορεί να προωθήσουν την ανάπτυξη του καρκίνου. Η απουσία της λειτουργίας του miR-34a εμποδίζει την ικανότητα του μονοπατιού p53 να ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, υποστηρίζοντας έτσι τον σχηματισμό όγκων.

Το μονοπάτι ενεργοποιημένης από μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK), συγκεκριμένα ο κλάδος εξωκυτταρικής κινάσης ρυθμιζόμενης με σήμα (ERK), έχει μια κρίσιμη λειτουργία στον έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Ανώμαλη

ενεργοποίηση αυτής της οδού αναφέρεται συνήθως σε κακοήθεια. Τα MicroRNAs έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με το μονοπάτι MAPK/ERK στοχεύοντας και επηρεάζοντας ειδικά τους ενεργοποιητές, υποδοχείς ή τελεστές, αλλάζοντας επομένως τη συνολική έξοδο σήματος.

Η οδός σηματοδότησης Wnt παίζει ζωτικό ρόλο στην ανάπτυξη των εμβρύων και στη διατήρηση της ισορροπίας των ιστών. Η διακοπή αυτής της οδού συνδέεται με διάφορους τύπους καρκίνου. Τα microRNAs μπορούν να αλλάξουν το μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης στοχεύοντας κρίσιμα συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των συνδετών Wnt, των υποδοχέων και των παραγόντων μεταγραφής. Αυτή η διαμόρφωση έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει τον προσδιορισμό του πεπρωμένου των κυττάρων και την πρόοδο των όγκων.

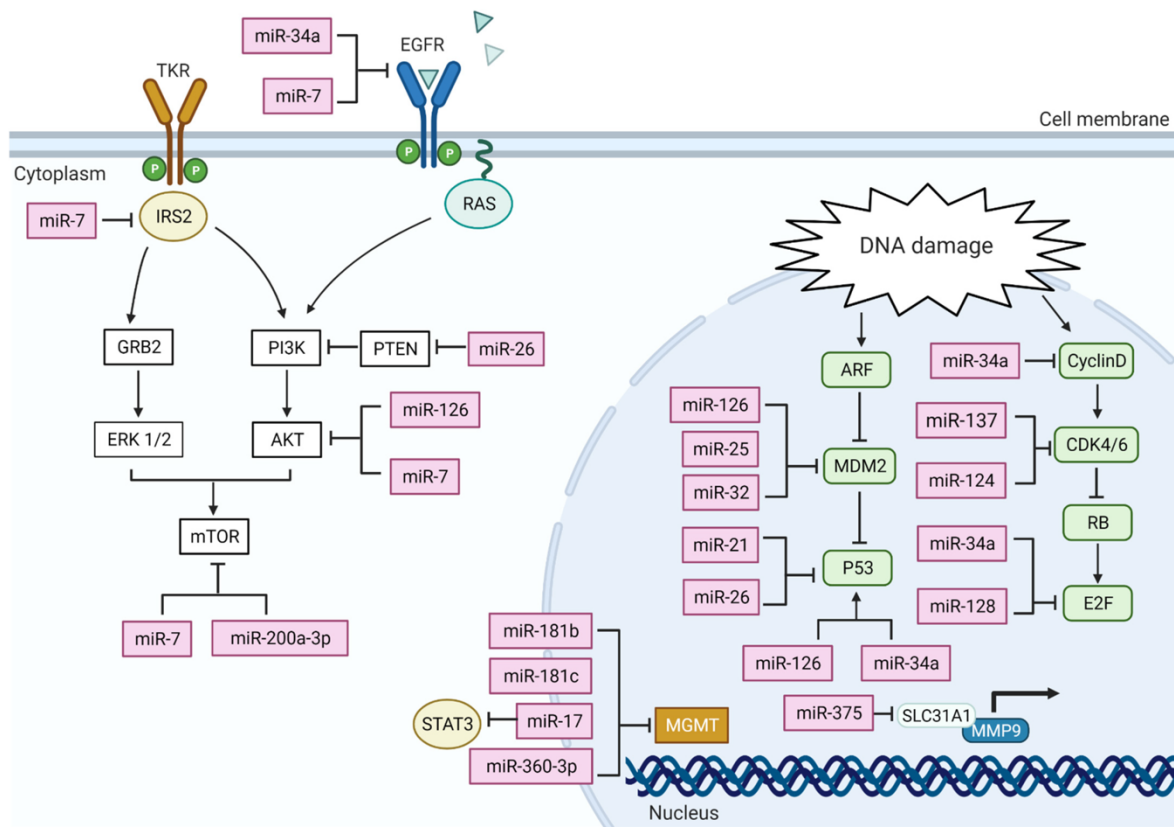
Το σύστημα σηματοδότησης Notch παίζει ρόλο στον καθορισμό της μοίρας των κυττάρων, στην προώθηση της διαφοροποίησης και στην τόνωση του πολλαπλασιασμού (Girardi et al., 2018). Η μη φυσιολογική ενεργοποίηση της οδού Notch έχει συνδεθεί με διάφορους τύπους καρκίνου. Τα microRNAs ασκούν την επιρροή τους στην οδό Notch στοχεύοντας επιλεκτικά διαφορετικά συστατικά, όπως υποδοχείς Notch και τελεστές. Αυτό συμβάλλει στον ακριβή έλεγχο της μοίρας των κυττάρων και στην ανάπτυξη όγκων.

Το σύστημα σηματοδότησης Hedgehog είναι απαραίτητο για το σχηματισμό και τη συντήρηση των ιστών. Η διαταραχή αυτού του συστήματος συνδέεται με πολλούς τύπους καρκίνου (Takasaki, 2015). Τα MicroRNA μπορούν να τροποποιήσουν την οδό Hedgehog ρυθμίζοντας επιλεκτικά βασικά συστατικά όπως το Smoothed (SMO) ή το ομόλογο ογκογονιδίου που σχετίζεται με το γλοιώμα (GLI), ασκώντας επομένως επίδραση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη όγκων.

Η οδός NF- κ B είναι ένας κρίσιμος ελεγκτής της φλεγμονής, της ανοσολογίας και της βιωσιμότητας των κυττάρων (Ben-David & Amon, 2020). Ο καρκίνος συχνά εμφανίζει μη φυσιολογική δραστηριότητα NF- κ B. Τα MicroRNAs έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν το μονοπάτι NF- κ B στοχεύοντας συγκεκριμένα τα συστατικά που είναι υπεύθυνα για την ενεργοποίησή του. Αυτή η ρύθμιση έχει ως αποτέλεσμα τροποποιημένες φλεγμονώδεις αποκρίσεις και αλλαγές στην κυτταρική επιβίωση.

Η οδός TGF- β διέπει μια σειρά βιολογικών λειτουργιών, όπως ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, η διαφοροποίηση και οι ανοσολογικές αποκρίσεις (Liz & Esteller, 2016). Η διακοπή αυτής της οδού σχετίζεται με την πρόοδο του καρκίνου. Τα MicroRNAs έχουν την ικανότητα

να αλληλεπιδρούν με το μονοπάτι TGF- β στοχεύοντας ειδικά υποδοχείς, κατάντη τελεστές ή ρυθμιστές. Αυτή η αλληλεπίδραση έχει άμεσο αντίκτυπο στη συμπεριφορά των κυττάρων και στην ανάπτυξη όγκων. Τα microRNAs μπορούν να συμβάλουν στην περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ πολλών καρκινογόνων οδών (Liz & Esteller, 2016). Έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν επιλεκτικά πολλούς κόμβους σε διάφορες οδούς ταυτόχρονα, με αποτέλεσμα είτε συνεργατικές είτε αντίθετες επιπτώσεις στη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων. Ο πολύπλοκος ιστός των σχέσεων μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την πρόοδο του καρκίνου και την αποτελεσματικότητα των θεραπειών.



Εικόνα 6: Σηματοδοτικά Μονοπάτια που αναφέρονται στην ανάπτυξη του γλοιοβλαστώματος, συμπεριλαμβανομένου του μονοπατιού p53, του μονοπατιού RB και του μονοπατιού P13K και η συμμετοχή διαφόρων τύπων miRNA σε αυτά (Sati & Parhar, 2021).

Η κατανόηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των microRNAs και των ογκογόνων οδών είναι ζωτικής σημασίας για την αποκάλυψη των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν τον σχηματισμό καρκίνου (Liz & Esteller, 2016). Η μη ισορροπημένη έκφραση του microRNA μπορεί να προάγει την ογκογόνο σηματοδότηση, οδηγώντας στον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και την εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων. Οι επιστήμονες διερευνούν επί του παρόντος μεθόδους για να στοχεύσουν ειδικά τα microRNAs ή να τροποποιήσουν τις συνδέσεις τους με μονοπάτια που προκαλούν καρκίνο για θεραπευτική χρήση (Zimmerman & Wu, 2011).

Κεφάλαιο 4: Διαγνωστικό και προγνωστικό δυναμικό των microRNAs

4.1 Βιοδείκτες

4.1.1 Τα MicroRNAs ως διαγνωστικοί βιοδείκτες

Τα microRNAs χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικοί βιοδείκτες στην έρευνα για τον καρκίνο και σε άλλους ιατρικούς τομείς. (Hibner et al., 2018) Η ικανότητά τους να χρησιμεύουν ως αξιόπιστοι δείκτες εμφάνισης, εξέλιξης και πρόγνωσης της νόσου έχει δημιουργήσει ευκαιρίες για μη επεμβατικές και εξαιρετικά ευαίσθητες διαγνωστικές μεθόδους.

Οι διαγνωστικοί βιοδείκτες αναφέρονται σε διακριτά μόρια ή ενδείξεις που μπορούν να ποσοτικοποιηθούν για την ανίχνευση της ύπαρξης μιας ασθένειας ή πάθησης (Hibner et al., 2018). Στο πεδίο του καρκίνου, αυτοί οι βιοδείκτες διαδραματίζουν ζωτική λειτουργία στην έγκαιρη αναγνώριση της νόσου, καθώς οι όγκοι είναι συχνά πιο διαχειρίσιμοι κατά τις πρώιμες φάσεις τους. Τα microRNAs εμφανίζουν διακριτικά χαρακτηριστικά που τα καθιστούν πολλά υποσχόμενους διαγνωστικούς δείκτες.

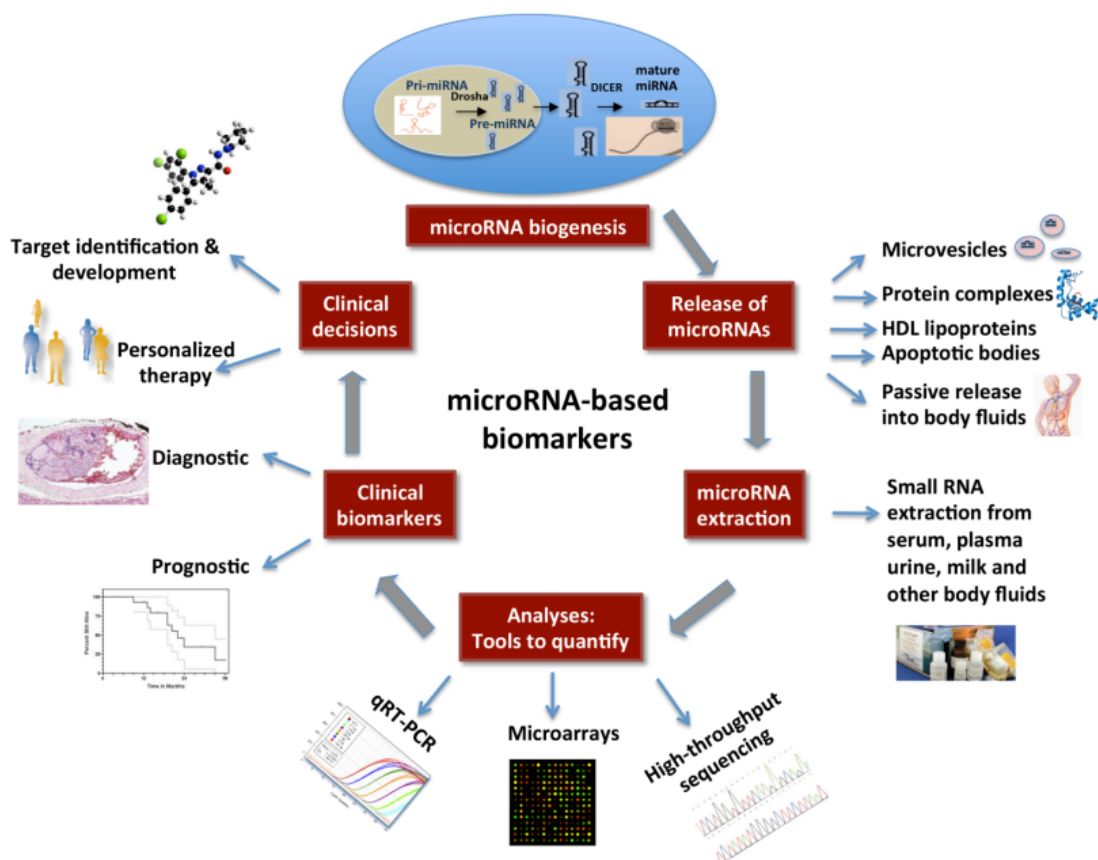
Τα microRNAs έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι σταθερά σε πολλά σωματικά υγρά, συμπεριλαμβανομένου του αίματος, των ούρων και του σάλιου, καθιστώντας τα πολύτιμα ως διαγνωστικούς βιοδείκτες (Kosaka et al., 2010). Τα microRNAs έχουν μια μοναδική ικανότητα να αντέχουν στην αποικοδόμηση, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για μη επεμβατικές διαγνωστικές διαδικασίες, σε αντίθεση με πολλά άλλα βιομόρια. Η σταθερότητα των δειγμάτων επιτρέπει τη συλλογή και ανάλυση δειγμάτων ασθενών με ελάχιστο κίνδυνο υποβάθμισης του δείγματος.

Η ειδική για τον ιστό έκφραση είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό των microRNAs, όπου εκφράζονται επιλεκτικά σε συγκεκριμένους ιστούς. Στο πεδίο του καρκίνου, αυτό σημαίνει ότι συγκεκριμένα microRNA μπορεί να εμφανίζουν αυξημένη έκφραση ή μειωμένη έκφραση σε κακοήθεις ιστούς σε σύγκριση με φυσιολογικούς ιστούς (Vishwakarma & Piddini, 2020). Η διαφορική έκφραση μπορεί να είναι ένα αξιόπιστο σημάδι της ύπαρξης καρκίνου και της συγκεκριμένης θέσης ιστού του. (Fiorucci et al., 2012) Οι πρόοδοι στη μοριακή βιολογία και τη διαγνωστική τεχνολογία έχουν επιτρέψει την ανάπτυξη εξαιρετικά ευαίσθητων μεθόδων για την ανίχνευση και τη μέτρηση των microRNAs. Μέθοδοι όπως η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (qPCR), ο προσδιορισμός αλληλουχίας επόμενης γενιάς (NGS) και η

ανάλυση μικροσυστοιχιών επιτρέπουν στους ερευνητές και τους γιατρούς να ποσοτικοποιήσουν με ακρίβεια τα επίπεδα MicroRNA.

Η ανίχνευση του καρκίνου σε πρώιμο στάδιο είναι ένα κρίσιμο στοιχείο για τη βελτίωση της πρόγνωσης του ασθενούς. Τα microRNAs έχουν αποδείξει τη δυνατότητα ανίχνευσης του καρκίνου κατά τα αρχικά του στάδια, πριν από την εμφάνιση κλινικών σημείων. Η πρώιμη ανακάλυψη μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένες εναλλακτικές θεραπείας και αυξημένα ποσοστά επιβίωσης για τους ασθενείς (Adams et al., 2014). Επίσης, τα microRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δυναμικοί βιοδείκτες για την παρακολούθηση της πορείας των ασθενειών. Οι χρονικές παραλλαγές στα προφίλ έκφρασης microRNA μπορούν να προσφέρουν πολύτιμες γνώσεις για την εξέλιξη της νόσου και να βοηθήσουν στη λήψη ενημερωμένων θεραπευτικών επιλογών. Η χρήση της παρακολούθησης σε πραγματικό χρόνο μπορεί να είναι αρκετά πολύτιμη στην εφαρμογή εξατομικευμένων ιατρικών προσεγγίσεων.

Η αναγνώριση διακριτών microRNA που συνδέονται με την απόκριση ή την αντίσταση στη θεραπεία μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη της θεραπευτικής ανταπόκρισης ενός ασθενούς. Παρέχοντας αυτές τις πληροφορίες, οι κλινικοί γιατροί μπορούν να προσαρμόσουν τα θεραπευτικά σχήματα για κάθε ασθενή, μεγιστοποιώντας έτσι την πιθανότητα να επιτύχουν θετικό αποτέλεσμα. Τέλος, αν και τα microRNAs παρουσιάζουν μεγάλες δυνατότητες ως διαγνωστικοί βιοδείκτες, υπάρχουν διάφορα εμπόδια που πρέπει να ξεπεραστούν (Hammond, 2015). Οι συνεχιζόμενες ερευνητικές προτεραιότητες περιλαμβάνουν την τυποποίηση των διαδικασιών συλλογής και ανάλυσης δειγμάτων, καθώς και την επικύρωση συγκεκριμένων υπογραφών microRNA για διακριτές ασθένειες. Επιπλέον, είναι ζωτικής σημασίας η ανάπτυξη διαγνωστικών τεστ που είναι εύκολο να κατανοήσουν οι χρήστες και να χρησιμοποιηθούν σε καθημερινές κλινικές ρυθμίσεις.



Εικόνα 7: MiRNAs πιθανοί διαγνωστικοί και προγνωστικοί βιοδείκτες (Steer, C.J., et al., 2012).

4.1.2 Προγνωστική αξία στην ανταπόκριση στη θεραπεία

Τα microRNAs έχουν διπλούς ρόλους ως διαγνωστικοί βιοδείκτες και ως προγνωστικοί παράγοντες της θεραπείας απόκρισης σε καρκίνο και άλλες διαταραχές (Sharma & Gupta, 2020). Η συμμετοχή τους στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ασθενών σε συγκεκριμένα φάρμακα έχει σημαντικές συνέπειες για την προσαρμογή των θεραπευτικών προσεγγίσεων, τη μεγιστοποίηση των αποτελεσμάτων και τη μείωση των περιττών θεραπειών. Αυτή η ενότητα εμβαθύνει στην προγνωστική σημασία των microRNAs στην ανταπόκριση στη θεραπεία και την επιρροή της στην εξατομικευμένη ιατρική.

Οι προγνωστικοί βιοδείκτες είναι διαγνωστικά εργαλεία που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση της πιθανής ανταπόκρισης ενός ασθενούς σε μια συγκεκριμένη θεραπεία ή θεραπεία (Samuel & Carter, 2017). Στον τομέα της θεραπείας του καρκίνου, οι προγνωστικοί

βιοδείκτες έχουν τεράστια αξία για τον καθορισμό της βέλτιστης θεραπευτικής πορείας για κάθε συγκεκριμένο ασθενή. Τα microRNAs έχουν υποσχεθεί ως προγνωστικοί βιοδείκτες, καθώς μπορούν να υποδείξουν με ακρίβεια τις μοριακές αλλοιώσεις που συμβαίνουν στα καρκινικά κύτταρα. Η χρήση των microRNAs ως προγνωστικοί βιοδείκτες δίνει τη δυνατότητα στους ογκολόγους και τους γιατρούς να προσαρμόζουν τις θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τα μοναδικά βιολογικά χαρακτηριστικά των μεμονωμένων ασθενών (Ahadi, 2021). Η εξατομικευμένη στρατηγική, κοινώς γνωστή ως ιατρική ακριβείας, έχει την ικανότητα να βελτιστοποιεί την αποτελεσματικότητα της θεραπείας ελαχιστοποιώντας παράλληλα τις ανεπιθύμητες ενέργειες. Μέσω της εξέτασης της έκφρασης συγκεκριμένων microRNA στον όγκο ενός ασθενούς, οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης μπορούν να βελτιώσουν τη διαδικασία λήψης αποφάσεων όταν πρόκειται για την επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας.

Τα microRNAs παρουσιάζουν δυνατότητες στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης των καρκινοπαθών στη χημειοθεραπεία, μια ευρέως χρησιμοποιούμενη θεραπεία καρκίνου. Συγκεκριμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα έχουν συνδεθεί με μεγαλύτερη ευαισθησία ή αντίσταση μέσω της αναγνώρισης συγκεκριμένων υπογραφών microRNA. Η αναγνώριση αυτών των χαρακτηριστικών προτύπων μπορεί να βοηθήσει τους επαγγελματίες του ιατρικού τομέα στην επιλογή της καταλληλότερης χημειοθεραπείας για κάθε ασθενή, μεγιστοποιώντας έτσι την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Ahadi, 2021). Τα microRNAs συμβάλλουν επίσης στην πρόβλεψη των αποκρίσεων σε στοχευμένες θεραπείες, οι οποίες στοχεύουν στην παρεμπόδιση συγκεκριμένων βιοχημικών διεργασιών που προάγουν την ανάπτυξη του καρκίνου. Τα microRNAs μπορούν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες για την πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας μιας συγκεκριμένης στοχευμένης θεραπείας ή για τον προσδιορισμό του εάν πρέπει να εξεταστούν εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Η απόκτηση αυτών των πληροφοριών είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη της χρήσης αναποτελεσματικών θεραπειών και τη μείωση της εμφάνισης αρνητικών παρενεργειών (Fiorucci et al., 2012).

Η ανοσοθεραπεία έχει προκύψει ως μια ευνοϊκή στρατηγική για τη θεραπεία του καρκίνου, χρησιμοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα του σώματος για την επιλεκτική επίθεση στα καρκινικά κύτταρα. Η δυνατότητα των microRNAs να προβλέψουν τις αποκρίσεις των ασθενών στην ανοσοθεραπεία έχει μελετηθεί. Συγκεκριμένα προφίλ MicroRNA μπορούν να χρησιμεύσουν ως δείκτες της πιθανότητας ενός ασθενούς να εμφανίσει ευνοϊκή ανταπόκριση στα ανοσοθεραπευτικά φάρμακα, βοηθώντας έτσι τους γιατρούς να λαμβάνουν καλά ενημερωμένες αποφάσεις για τις επιλογές θεραπείας (Ventura & Jacks, 2009). Τα microRNAs

μπορούν να προσφέρουν πολύτιμες γνώσεις για τους ακριβείς μοριακούς μηχανισμούς που αποτελούν τη βάση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στη θεραπεία. Μέσω της ανάλυσης της έκφρασης microRNA σε ανθεκτικούς όγκους, οι ερευνητές μπορούν να αποκαλύψουν τα ακριβή μονοπάτια και τα γονίδια που εμπλέκονται στη θεραπευτική αντίσταση. Αυτή η γνώση παρέχει τη βάση για τη διαμόρφωση στρατηγικών για την υπέρβαση της αντίστασης και τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Τα microRNAs παρέχουν επίσης το πλεονέκτημα της παρακολούθησης της θεραπευτικής απόκρισης με την πάροδο του χρόνου (Kosaka et al., 2010). Οι διακυμάνσεις στα πρότυπα έκφρασης του microRNA καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας μπορούν να λειτουργήσουν ως δυναμικοί βιοδείκτες, επιτρέποντας στους γιατρούς να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας καθώς εξελίσσεται (Zhang et al., 2014). Εάν η θεραπεία δεν επιτυγχάνει την επιδιωκόμενη ανταπόκριση, μπορούν να γίνουν έγκαιρες αλλαγές για τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων του ασθενούς.

Παρόλο που τα microRNAs δείχνουν δυνατότητες ως προγνωστικοί βιοδείκτες στην απόκριση στη θεραπεία, εξακολουθούν να υπάρχουν εμπόδια που πρέπει να αντιμετωπιστούν (Kosaka et al., 2010). Οι ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώνονται επί του παρόντος στην καθιέρωση τυποποιημένων μεθοδολογιών για την ανάλυση του microRNA και την επαλήθευση της ακρίβειας ορισμένων microRNAs για διάφορες θεραπείες και μορφές καρκίνου. Επιπλέον, η ενσωμάτωση προγνωστικών δοκιμών που βασίζονται σε microRNAs στην τακτική κλινική πρακτική απαιτεί σχολαστική εξέταση ρυθμιστικών και υλικοτεχνικών παραγόντων.

4.2 Προκλήσεις και ευκαιρίες

4.2.1 Τρέχουσες προκλήσεις

Προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σωστά οι διαγνωστικές και προγνωστικές δυνάμεις των microRNAs ως βιοδεικτών και προγνωστικών ανταπόκρισης θεραπείας, είναι απαραίτητο να επιλυθούν διάφορες υπάρχουσες δυσκολίες στην κλινική πράξη (Fiorucci et al., 2012). Τα θέματα καλύπτουν μια σειρά τομέων στη διάγνωση και την εξατομικευμένη θεραπεία που βασίζεται σε microRNA, όπως η τυποποίηση δειγμάτων, η ερμηνεία δεδομένων και οι κανονιστικές εκτιμήσεις.

Ένα βασικό εμπόδιο στην έρευνα microRNA είναι η καθιέρωση ομοιομορφίας στη συλλογή, επεξεργασία και ανάλυση δειγμάτων. Οι διακυμάνσεις σε αυτές τις διαδικασίες μπορεί να δημιουργήσουν αποκλίσεις και να επηρεάσουν την αξιοπιστία των αναλύσεων που βασίζονται σε microRNAs (Mansoori et al., 2015). Τα καθιερωμένα πρωτόκολλα για τη συλλογή και το χειρισμό βιολογικών δειγμάτων, όπως αίματος ή ιστών, είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της συνέπειας των αποτελεσμάτων σε διάφορα εργαστήρια και κλινικά περιβάλλοντα.

Το έργο της κατανόησης των δεδομένων microRNAs αποτελεί σημαντική δυσκολία. Το προφίλ microRNA αποδίδει εκτεταμένα δεδομένα και το να διακρίνει κανείς θεραπευτικά σημαντικά μοτίβα ή υπογραφές μπορεί να είναι περίπλοκο (Mansoori et al., 2015). Η δημιουργία αξιόπιστων εργαλείων και αλγορίθμων βιοπληροφορικής είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική ανάλυση των προφίλ έκφρασης microRNA και την απόκτηση πολύτιμων πληροφοριών. Οι ερευνητές πρέπει επίσης να αντιμετωπίσουν τις προκλήσεις που σχετίζονται με την κανονικοποίηση δεδομένων και τη συγχώνευση πολλαπλών πηγών δεδομένων για ενδελεχή ανάλυση. Επιπλέον, είναι ζωτικής σημασίας να επικυρωθεί η κλινική αξία των βιοδεικτών microRNA προκειμένου να διασφαλιστεί η αξιοπιστία και η ακρίβειά τους. Αρκετοί πιθανοί υποψήφιοι microRNA που ανακαλύφθηκαν σε ερευνητικές έρευνες απαιτούν ενδελεχή επικύρωση σε διάφορα δημογραφικά και κλινικά πλαίσια ασθενών (Kunej et al., 2011). Η διασφάλιση της συνέπειας και της δυνατότητας εφαρμογής των αναλύσεων που βασίζονται σε microRNA απαιτεί την αντιγραφή των ευρημάτων σε άλλα εργαστήρια και πληθυσμούς.

Η ποικιλία ασθενειών, όπως ο καρκίνος, αποτελεί σημαντικό εμπόδιο για τη διάγνωση που βασίζεται σε microRNA λόγω της μεταβλητότητάς τους. Οι όγκοι από διάφορους ασθενείς μπορεί να εμφανίζουν μοναδικά προφίλ έκφρασης microRNA, γεγονός που καθιστά δύσκολη την αναγνώριση καθολικών δεικτών (Ahadi, 2021). Είναι ζωτικής σημασίας να κατηγοριοποιούνται οι ασθενείς σύμφωνα με τους υποτύπους και τα χαρακτηριστικά της ασθένειάς τους, προκειμένου να προσαρμόζονται τα διαγνωστικά που βασίζονται σε microRNA για συγκεκριμένες ομάδες ασθενών.

Η απόκτηση ρυθμιστικής άδειας και η προώθηση της χρήσης αναλύσεων που βασίζονται σε microRNA περιλαμβάνει την πλοήγηση σε ένα περίπλοκο πλαίσιο κανονιστικών κανόνων και προτύπων. Είναι σημαντικό να διασφαλιστεί ότι οι δοκιμές microRNA συμμορφώνονται με τα ρυθμιστικά πρότυπα για την ασφάλεια (Ferracin et al., 2010), την αποτελεσματικότητα και τον

ποιοτικό έλεγχο. Η δημιουργία σαφών ρυθμιστικών διαδρομών για τα διαγνωστικά microRNA απαιτεί συνεργασία μεταξύ ερευνητών, γιατρών και ρυθμιστικών φορέων.

Η ενσωμάτωση διαγνωστικών που βασίζονται σε microRNA στη συνήθη κλινική πρακτική είναι ένα πολύπλοκο έργο. Οι επαγγελματίες του ιατρικού τομέα απαιτούν άμεσα διαθέσιμα και εύχρηστα όργανα για να ζητήσουν, να εκτελέσουν και να αναλύσουν εξετάσεις microRNA. Είναι σημαντικό να δημιουργηθούν σαφείς κλινικές κατευθυντήριες γραμμές και συστάσεις βασισμένες σε στοιχεία για τη χρήση βιοδεικτών microRNA, προκειμένου να προωθηθεί η αποδοχή τους στη φροντίδα των ασθενών (Reza Mirzaei et al., 2016). Δεοντολογικά ζητήματα και ζητήματα απορρήτου προκύπτουν σε σχέση με τις δοκιμές που βασίζονται σε microRNA, όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε διαγνωστική τεχνική. Η διασφάλιση της προστασίας των δεδομένων των ασθενών και η απόκτηση ενημερωμένης συναίνεσης για τις δοκιμές αποτελούν κρίσιμα στοιχεία της υπεύθυνης εφαρμογής. Η συνεχής αντιμετώπιση αυτών των ανησυχιών με παράλληλη διατήρηση της ελευθερίας και του απορρήτου των ασθενών αποτελεί μια επίμονη πρόκληση.

Η οικονομική αποδοτικότητα των διαγνωστικών που βασίζονται σε microRNA είναι ένας παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, ειδικά σε συστήματα υγειονομικής περίθαλψης που έχουν περιορισμένους πόρους (Chen & Wang, 2014). Η πρόκληση έγκειται στην εξεύρεση ισορροπίας μεταξύ των πιθανών πλεονεκτημάτων της εξατομικευμένης θεραπείας και της οικονομικής βιωσιμότητας της ενσωμάτωσης των τεστ microRNA, τα οποία πρέπει να αντιμετωπίσουν οι υπεύθυνοι χάραξης πολιτικής και οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης.

Η εκπαίδευση και η κατάρτιση είναι απαραίτητες για τους εργαζόμενους στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης ώστε να χρησιμοποιούν αποτελεσματικά τα διαγνωστικά που βασίζονται σε microRNA (Chen & Wang, 2014). Τα εκπαιδευτικά προγράμματα θα πρέπει να καλύπτουν τις διαδικασίες συλλογής δειγμάτων, ερμηνείας δεδομένων και λήψης κλινικών αποφάσεων που βασίζονται σε αποτελέσματα microRNA. Είναι σημαντικό να εκπαιδεύονται επαρκώς οι γιατροί προκειμένου να ενσωματώσουν αποτελεσματικά τη δοκιμή microRNA στην πρακτική τους και να επιτύχουν επιτυχή εφαρμογή.

4.3 Κλινικές Εφαρμογές

4.3.1 Ενσωμάτωση των MicroRNA Diagnostics στην κλινική πράξη

Η ενσωμάτωση των διαγνωστικών microRNA στην κλινική πράξη είναι ένα σημαντικό βήμα προόδου στην εξατομικευμένη θεραπεία ασθενών (Maman & Witz, 2018). Η επιτυχής

εφαρμογή απαιτεί ενδεδεγμένη επικύρωση, τυποποίηση πρωτοκόλλων και ρυθμιστική έγκριση (Markou et al., 2011). Η κλινική επικύρωση συνεπάγεται ενδεδεγμένη μελέτη για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας, ευαισθησίας και επαναληψιμότητας των βιοδεικτών microRNAs σε διάφορες ομάδες ασθενών, επιβεβαιώνοντας την κλινική τους χρησιμότητα.

Είναι σημαντικό να τυποποιηθούν οι τεχνικές δοκιμών microRNA για να εγγυηθούν συνεπή και αξιόπιστα αποτελέσματα σε διάφορα εργαστήρια και κλινικά περιβάλλοντα (Markou et al., 2011). Αυτό απαιτεί την ανάπτυξη τυποποιημένων πρωτοκόλλων για τη συλλογή, την επεξεργασία και την ανάλυση δειγμάτων, καθώς και αυστηρές μεθόδους ποιοτικού ελέγχου. Η λήψη ρυθμιστικής έγκρισης, ειδικά από οργανισμούς όπως ο FDA, είναι ζωτικής σημασίας για την κυκλοφορία ενός προϊόντος στην αγορά, απαιτώντας σημαντικά κλινικά δεδομένα για να αποδειχθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα (Ferracin et al., 2010). Η επιτυχής πλοήγηση στα ρυθμιστικά κανάλια βασίζεται στη συνεργασία μεταξύ ερευνητών, διαγνωστικών εταιρειών και ρυθμιστικών φορέων.

Είναι σημαντικό να υπάρχουν ακριβείς κλινικές προτάσεις για την αποτελεσματική ενσωμάτωση των διαγνωστικών microRNA (Ferracin et al., 2010). Οι συστάσεις, που δημιουργούνται μέσω της συνεργασίας μεταξύ επαγγελματικών ιατρικών ενώσεων και ειδικών, παρέχουν σαφείς οδηγίες για τους επαγγελματίες υγείας. Τα προγράμματα εκπαίδευσης για το προσωπικό υγειονομικής περίθαλψης είναι απαραίτητα και θα πρέπει να περιλαμβάνουν οδηγίες σχετικά με τη δειγματοληψία, την ανάλυση και τη λήψη κλινικών αποφάσεων με βάση τα δεδομένα microRNA (Chen & Wang, 2014). Η ολοκληρωμένη εκπαίδευση των ιατρών είναι ζωτικής σημασίας για την ομαλή ενσωμάτωση στην πράξη.

Η αποτελεσματική διαχείριση και ερμηνεία δεδομένων είναι ζωτικής σημασίας για τη διαχείριση των δεδομένων προφίλ microRNA (Peng & Croce, 2016). Απαιτούνται αποτελεσματικά εργαλεία και λύσεις λογισμικού για την απλοποίηση της διαχείρισης δεδομένων και τη βοήθεια στη λήψη κλινικών αποφάσεων. Η συνεργασία μεταξύ βιοπληροφορικών, επιστημόνων δεδομένων και κλινικών γιατρών είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αυτών των τεχνολογιών. Τα συνεργατικά δίκτυα που περιλαμβάνουν ερευνητές, γιατρούς, διαγνωστικές εταιρείες και ρυθμιστικές αρχές είναι απαραίτητα για την πρόοδο των διαγνωστικών microRNA (Mirzaei et al., 2016). Αυτά τα δίκτυα επιτρέπουν την ανταλλαγή γνώσεων και επιταχύνουν τη διαδικασία μετάφρασης των ερευνητικών ευρημάτων σε κλινικές εφαρμογές. Για την τεκμηριωμένη λήψη αποφάσεων, είναι ζωτικής σημασίας οι ασθενείς να συμμετέχουν στη διαδικασία προσυμπτωματικού ελέγχου και ερμηνείας (O'Brien et al., 2018). Η παροχή λεπτομερών πληροφοριών στους ασθενείς τους δίνει τη δυνατότητα να έχουν ενεργό

ρόλο στα σχέδια θεραπείας τους. Η αξιολόγηση της σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας των διαγνωστικών που βασίζονται σε microRNA είναι ζωτικής σημασίας για τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης να λαμβάνουν καλά ενημερωμένες αποφάσεις πολιτικής (Cho, 2010). Η συνεχής μελέτη και η πρόοδος στη βιολογία και την τεχνολογία MicroRNA είναι απαραίτητες για την πλήρη αξιοποίηση των δυνατοτήτων τους στην υγειονομική περίθαλψη.

4.3.2 Διαστρωμάτωση ασθενών και σχεδιασμός θεραπείας

Η ενσωμάτωση των διαγνωστικών microRNA μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την ταξινόμηση των ασθενών και τον σχεδιασμό θεραπείας, τα οποία αποτελούν κρίσιμα μέρη της υγειονομικής περίθαλψης (Mirzaei et al., 2016). Τα microRNA παρέχουν ένα πολύτιμο μέσο ταξινόμησης των ασθενών σε υποομάδες σύμφωνα με τα ξεχωριστά μοριακά τους προφίλ, επιτρέποντας στους παρόχους υγειονομικής περίθαλψης να προσαρμόζουν τα σχέδια θεραπείας για βελτιωμένα θεραπευτικά αποτελέσματα και φροντίδα των ασθενών.

Η διαστρωμάτωση ασθενών με χρήση ανάλυσης που βασίζεται σε microRNAs διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην επίτευξη εξατομικευμένης ιατρικής, όπου οι αποφάσεις θεραπείας προσαρμόζονται ώστε να ευθυγραμμίζονται με τα μοναδικά μοριακά χαρακτηριστικά του ασθενούς (Cho, 2010). Οι επαγγελματίες υγείας έχουν την επιλογή να χρησιμοποιούν δεδομένα microRNA για να προσαρμόσουν τα θεραπευτικά σχήματα, τις δοσολογίες και τη διάρκεια, προκειμένου να αυξήσουν την πιθανότητα επιτυχίας, αντί να χρησιμοποιούν μια τυποποιημένη μέθοδο.

Τα microRNAs μπορούν να βοηθήσουν στην αναγνώριση ασθενών που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης της νόσου ή που είναι πιθανό να έχουν κακή ανταπόκριση στη θεραπεία. Μέσω της ανάλυσης των προτύπων έκφρασης microRNA, οι γιατροί μπορούν να εντοπίσουν ασθενείς που μπορεί να ωφεληθούν από πιο εντατικές στρατηγικές θεραπείας ή ενισχυμένη επιτήρηση. Η υιοθέτηση αυτής της προληπτικής στρατηγικής μπορεί να οδηγήσει σε έγκαιρες παρεμβάσεις και βελτιωμένα αποτελέσματα για τους ασθενείς (Cho, 2010).

Το προφίλ microRNA βοηθά τους κλινικούς ιατρούς στην επιλογή των καταλληλότερων θεραπευτικών επιλογών για μεμονωμένους ασθενείς. Τα συγκεκριμένα πρότυπα microRNA μπορούν να προβλέψουν με ακρίβεια την πιθανότητα ο ασθενής να παρουσιάσει θετική ανταπόκριση σε συγκεκριμένες θεραπείες, όπως χημειοθεραπεία, στοχευμένα φάρμακα ή ανοσοθεραπείες (Tang et al., 2015). Αυτές οι πληροφορίες διευκολύνουν την επιλογή

θεραπείας, ελαχιστοποιώντας έτσι τη χρήση αναποτελεσματικών θεραπειών και μετριάζοντας την εμφάνιση αρνητικών επιπτώσεων.

Τα διαγνωστικά microRNAs έχουν τη δυνατότητα να προβλέπουν την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία. Οι επαγγελματίες υγείας μπορούν να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε πραγματικό χρόνο παρακολουθώντας τις αλλαγές στα πρότυπα έκφρασης microRNA (O'Brien et al., 2018). Σε περίπτωση που μια θεραπεία αποτύχει να αποδώσει την επιδιωκόμενη απόκριση, μπορούν να εφαρμοστούν γρήγορες αλλαγές, αποτρέποντας έτσι την εξέλιξη της νόσου και ενισχύοντας τα αποτελέσματα των ασθενών.

Επιπλέον, η χρήση της στρωματοποίησης ασθενών με βάση το microRNA επιτρέπει την εφαρμογή συνδυαστικών φαρμάκων που μπορούν να στοχεύσουν αποτελεσματικά πολλές οδούς της νόσου ταυτόχρονα (Tsai et al., 2016). Μέσω της ταυτοποίησης των microRNAs που συνδέονται με διάφορα μέρη της νόσου, οι γιατροί μπορούν να αναπτύξουν πρωτόκολλα θεραπείας που στοχεύουν πολλές πτυχές της διαταραχής, αυξάνοντας ενδεχομένως τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα (Corsini et al., 2012). Η χρήση του προφίλ microRNA μπορεί να βοηθήσει στην αναγνώριση ασθενών που έχουν λιγότερο σοβαρές ή λιγότερο επιθετικές εκδοχές της νόσου, συμβάλλοντας επομένως στην ελαχιστοποίηση της περιττής θεραπείας. Αυτά τα άτομα μπορεί να μην αντλούν πλεονεκτήματα από την εντατική θεραπεία και μπορούν να εξαιρεθούν από περιττές θεραπείες και τις αντίστοιχες ανεπιθύμητες ενέργειες, βελτιώνοντας τελικά την ποιότητα ζωής τους (Mirzaei et al., 2016).

Αντίθετα, τα διαγνωστικά microRNAs έχουν τη δυνατότητα να μεγιστοποιήσουν το όφελος της θεραπείας για ασθενείς που αναμένεται να έχουν ευνοϊκή ανταπόκριση. Οι κλινικοί γιατροί μπορούν να ενισχύσουν την πιθανότητα επίτευξης θετικής θεραπευτικής ανταπόκρισης και μακροχρόνιας ύφεσης διασφαλίζοντας ότι αυτά τα άτομα λαμβάνουν τα πιο αποτελεσματικά φάρμακα (Corsini et al., 2012). Η διαρκώς μεταβαλλόμενη έκφραση microRNA επιτρέπει την παρακολούθηση των θεραπευτικών απαντήσεων σε πραγματικό χρόνο (Nana-Sinkam & Croce, 2013). Οι κλινικοί γιατροί μπορούν να τροποποιήσουν αμέσως τα σχέδια θεραπείας με βάση το προφίλ microRNA ενός ασθενούς, το οποίο μπορεί να υποδηλώνει αντίσταση στη θεραπεία ή την πιθανότητα υποτροπής. Αυτό έχει τη δυνατότητα να σταματήσει την εξέλιξη της νόσου και να βελτιώσει την επιβίωση των ασθενών.

Η προσαρμογή των ιατρικών παρεμβάσεων σύμφωνα με δεδομένα microRNA μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας στην υγειονομική περίθαλψη

(Pal et al., 2015). Τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης μπορούν να βελτιώσουν την κατανομή των πόρων και να ανακουφίσουν το οικονομικό βάρος της διαχείρισης της νόσου αποφεύγοντας τις αναποτελεσματικές θεραπείες και βελτιστοποιώντας τις θεραπευτικές διαδικασίες. Η ενσωμάτωση των διαγνωστικών microRNA στη φροντίδα ασθενών ενισχύει μια προσέγγιση με επίκεντρο τον ασθενή. Οι ασθενείς διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στη λήψη αποφάσεων σχετικά με τη θεραπεία τους και οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης μπορούν να παρέχουν εξατομικευμένες θεραπείες που ταιριάζουν με τις μοναδικές προτιμήσεις και τους στόχους τους.

Συμπεράσματα

Αυτή η διπλωματική εργασία διερεύνησε τα microRNAs και τον καρκίνο και τις δυνατότητές τους ως επαναστατικοί διαγνωστικοί βιοδείκτες και προγνωστικά εργαλεία στην εξατομικευμένη θεραπεία. Σε αυτή την εργασία, εξετάσαμε τον ρόλο των microRNAs στη βιολογική βάση του καρκίνου, την έγκαιρη ανίχνευση, την κατηγοριοποίηση ασθενών και τις επιλογές θεραπείας. Εξετάσαμε τις προκλήσεις και τις ευκαιρίες της ενσωμάτωσης των διαγνωστικών microRNAs στην κλινική πράξη.

Η εργασία εισήγαγε τα microRNAs, εξηγώντας την προέλευση, τη ρύθμιση και τη συμμετοχή τους σε πολύπλοκους κυτταρικούς μηχανισμούς. Παρά το μέγεθός τους, αυτά τα μικροσκοπικά μόρια επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την έκφραση των γονιδίων και τα ρυθμιστικά δίκτυα. Η θεμελιώδης κατανόηση των microRNAs επέτρεψε την έρευνα για τον καρκίνο. Για να κατανοήσουμε τη σημασία των microRNAs σε αυτό το περιβάλλον, πρέπει να κατανοήσουμε την προέλευση, τα χαρακτηριστικά και τα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου. Η εργασία εξέτασε τον τρόπο με τον οποίο τα microRNAs λειτουργούν ως ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια στον καρκίνο, μια περίπλοκη ασθένεια που χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτη κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό.

Επιπλέον, η εργασία εξέτασε τον ζωτικό ρόλο των microRNAs ως βιοδείκτες καρκίνου. Η σταθερότητά τους στα σωματικά υγρά και τα πρότυπα έκφρασης ειδικά για τον ιστό επιτρέπουν την έγκαιρη αναγνώριση της νόσου. Η θεραπεία και η πρόγνωση επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου. Εξετάσαμε επίσης τη δυνατότητα των microRNAs να προβλέπουν θεραπευτικές αποκρίσεις, να επιλέγουν θεραπείες και να παρακολουθούν την εξέλιξη της νόσου, κάτι που βοηθά στη θεραπεία ακριβείας του καρκίνου.

Τα microRNAs έχουν σημαντικό δυναμικό, ωστόσο η διατριβή αναγνώρισε τις προκλήσεις κλινικής ολοκλήρωσής τους. Η τυποποίηση της επεξεργασίας δειγμάτων, η ανάλυση δεδομένων και η ρυθμιστική έκκριση ήταν μείζονα ζητήματα. Η εργασία τόνισε την ανάγκη για συνεργασία μεταξύ ερευνητών, γιατρών, ρυθμιστικών φορέων και διαγνωστικών εταιρειών για την αντιμετώπιση αυτών των προκλήσεων. Ωστόσο, η εργασία αποκάλυψε τις πολλές δυνατότητες του διαγνωστικού microRNA. Η έγκαιρη ανίχνευση της νόσου, η εξατομικευμένη επιλογή θεραπείας και οι δυναμικές προσαρμογές θεραπείας μπορούν να βελτιώσουν τη φροντίδα του ασθενούς. Τα microRNAs μπορούν να βελτιώσουν τους βιοδείκτες και να παράγουν νέες στοχευμένες θεραπείες.

Στη συνέχεια, καλύψαμε διεξοδικά τη διαγνωστική ενσωμάτωση του microRNA στην κλινική πράξη. Η κλινική επικύρωση, η τυποποίηση, η ρυθμιστική έγκριση και οι κλινικές συστάσεις είναι κρίσιμα βήματα στην προσέγγιση. Τονίστηκε επίσης η εκπαίδευση και ο εξοπλισμός των παρόχων υγειονομικής περίθαλψης για την ανάλυση δεδομένων microRNA και τη συμπερίληψη ασθενών στη λήψη αποφάσεων. Τα microRNAs είναι ζωτικής σημασίας για την κατηγοριοποίηση των ασθενών και τις επιλογές θεραπείας, σύμφωνα με τη διατριβή. Οι ειδικοί της ιατρικής μπορούν να προσαρμόσουν τη θεραπεία, να εντοπίσουν ασθενείς υψηλού κινδύνου και να προβλέψουν τα αποτελέσματα της θεραπείας ταξινομώντας τους ασθενείς κατά μοριακό προφίλ. Έτσι βελτιώνονται τα θεραπευτικά αποτελέσματα, μειώνονται οι περιττές θεραπείες και οι δαπάνες υγειονομικής περίθαλψης.

Βιβλιογραφία

- Abbott, M., & Ustoyev, Y. (2019). Cancer and the immune system: The history and background of immunotherapy. *Seminars in Oncology Nursing*, 35(5), 150923.
<https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.08.002>
- Acunzo, M., Romano, G., Wernicke, D., & Croce, C. M. (2015). MicroRNA and cancer – A brief overview. *Advances in Biological Regulation*, 57, 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.jbior.2014.09.013>
- Adams, B. D., Kasinski, A. L., & Slack, F. J. (2014). Aberrant regulation and function of micrnas in cancer. *Current Biology : CB*, 24(16), R762–R776.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.043>
- Ahadi, A. (2021). A systematic review of microRNAs as potential biomarkers for diagnosis and prognosis of gastric cancer. *Immunogenetics*, 73(2), 155–161.
<https://doi.org/10.1007/s00251-020-01201-6>
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281–297. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00045-5)
- Ben-David, U., & Amon, A. (2020). Context is everything: Aneuploidy in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 21(1), 44–62. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0171-x>
- Chan, E., Prado, D. E., & Weidhaas, J. B. (2011). Cancer microRNAs: From subtype profiling to predictors of response to therapy. *Trends in Molecular Medicine*, 17(5), 235–243.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.01.008>
- Chen, J., & Wang, X. (2014). MicroRNA-21 in breast cancer: Diagnostic and prognostic potential. *Clinical and Translational Oncology*, 16(3), 225–233. <https://doi.org/10.1007/s12094-013-1132-z>
- Chen, X. (2005). Microrna biogenesis and function in plants. *FEBS Letters*, 579(26), 5923–5931.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.07.071>

- Cho, W. C. S. (2010). MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(8), 1273–1281. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.12.014>
- Chong, M. M. W., Zhang, G., Cheloufi, S., Neubert, T. A., Hannon, G. J., & Littman, D. R. (2010). Canonical and alternate functions of the microRNA biogenesis machinery. *Genes & Development*, 24(17), 1951–1960. <https://doi.org/10.1101/gad.1953310>
- Corsini, L. R., Bronte, G., Terrasi, M., Amodeo, V., Fanale, D., Fiorentino, E., Cicero, G., Bazan, V., & Russo, A. (2012). The role of microRNAs in cancer: Diagnostic and prognostic biomarkers and targets of therapies. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 16(sup2), S103–S109. <https://doi.org/10.1517/14728222.2011.650632>
- Cowland, J. B., Hother, C., & Grønbaek, K. (2007). MicroRNAs and cancer. *APMIS*, 115(10), 1090–1106. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_775.xml.x
- Di Leva, G., Garofalo, M., & Croce, C. M. (2014). Micromnas in cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9(1), 287–314. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104715>
- Du, T., & Zamore, P. D. (2005). Microprimer: The biogenesis and function of microrna. *Development*, 132(21), 4645–4652. <https://doi.org/10.1242/dev.02070>
- Fernandez, S., Risolino, M., Mandia, N., Talotta, F., Soini, Y., Incoronato, M., Condorelli, G., Banfi, S., & Verde, P. (2015). Mir-340 inhibits tumor cell proliferation and induces apoptosis by targeting multiple negative regulators of p27 in non-small cell lung cancer. *Oncogene*, 34(25), 3240–3250. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.267>
- Ferracin, M., Veronese, A., & Negrini, M. (2010). Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis and prognosis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 10(3), 297–308. <https://doi.org/10.1586/erm.10.11>
- Fiorucci, G., V. Chiantore, M., Mangino, G., A. Percario, Z., Affabris, E., & Romeo, G. (2012). Cancer regulator microrna: Potential relevance in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Current Medicinal Chemistry*, 19(4), 461–474. <https://doi.org/10.2174/092986712798918798>

- Garzon, R., Calin, G. A., & Croce, C. M. (2009). MicroRNAs in cancer. *Annual Review of Medicine*, 60(1), 167–179. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.59.053006.104707>
- Girardi, E., López, P., & Pfeffer, S. (2018). On the importance of host microRNAs during viral infection. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2018.00439>
- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
- Hammond, S. M. (2015). An overview of microRNAs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 87, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.001>
- Han, W., Cui, H., Liang, J., & Su, X. (2020). Role of MicroRNA-30c in cancer progression. *Journal of Cancer*, 11(9), 2593–2601. <https://doi.org/10.7150/jca.38449>
- Hibner, G., Kimsa-Furdzik, M., & Francuz, T. (2018). Relevance of microRNAs as potential diagnostic and prognostic markers in colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 2944. <https://doi.org/10.3390/ijms19102944>
- Huang, S., & He, X. (2011). The role of microRNAs in liver cancer progression. *British Journal of Cancer*, 104(2), 235–240. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6606010>
- Kosaka, N., Iguchi, H., & Ochiya, T. (2010). Circulating microRNA in body fluid: A new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Science*, 101(10), 2087–2092. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x>
- Kunej, T., Godnic, I., Ferdin, J., Horvat, S., Dovc, P., & Calin, G. A. (2011). Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: An integrated review of literature. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 717(1), 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008>
- Lee, S. W. L., Paoletti, C., Campisi, M., Osaki, T., Adriani, G., Kamm, R. D., Mattu, C., & Chiono, V. (2019). MicroRNA delivery through nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 313, 80–95. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.10.007>
- Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2022). A structural view of mirna biogenesis and function. *Non-Coding RNA*, 8(1), 10. <https://doi.org/10.3390/ncrna8010010>

- Li, H., & Yang, B. B. (2013). Friend or foe: The role of microRNA in chemotherapy resistance. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34(7), 870–879. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.35>
- Liu, J., Huang, W., Yang, H., & Luo, Y. (2015). Expression and function of *miR-155* in breast cancer. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(5), 840–843. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1043946>
- Liu, X., Fortin, K., & Mourelatos, Z. (2008). Micrnas: Biogenesis and molecular functions. *Brain Pathology*, 18(1), 113–121. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00121.x>
- Liz, J., & Esteller, M. (2016). Lncrnas and micrnas with a role in cancer development. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1859(1), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2015.06.015>
- Lynam-Lennon, N., Maher, S. G., & Reynolds, J. V. (2009). The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biological Reviews*, 84(1), 55–71. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00061.x>
- Lynch, J., & Wang, J. Y. (2014). Micro rna regulation of cancer stem cell phenotypes. *International Journal of Genetic Science*, 1(1). <https://symbiosisonlinepublishing.com/genetic-science/>
- MacFarlane, L.-A., & R. Murphy, P. (2010). Microrna: Biogenesis, function and role in cancer. *Current Genomics*, 11(7), 537–561. <https://doi.org/10.2174/138920210793175895>
- Maman, S., & Witz, I. P. (2018). A history of exploring cancer in context. *Nature Reviews Cancer*, 18(6), 359–376. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0006-7>
- Mansoori, B., Mohammadi, A., Shirjang, S., & Baradaran, B. (2015). Micro-RNAs: The new potential biomarkers in cancer diagnosis, prognosis and cancer therapy. *Cellular and Molecular Biology*, 61(5), 1–10. <https://doi.org/10.14715/cmb/23>
- Markou, A., Liang, Y., & Lianidou, E. (2011). Prognostic, therapeutic and diagnostic potential of microRNAs in non-small cell lung cancer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 49(10), 1591–1603. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.661>
- Mehterov, N. (2023). Role of micrnas in cancer development and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 11058. <https://doi.org/10.3390/ijms241311058>

- Mirzaei, H., Gholamin, S., Shahidsales, S., Sahebkar, A., Jaafari, M. R., Mirzaei, H. R., Hassanian, S. M., & Avan, A. (2016). MicroRNAs as potential diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma. *European Journal of Cancer*, 53, 25–32.
<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.10.009>
- Muralidhar, G. G., & Barbolina, M. V. (2015). The mir-200 family: Versatile players in epithelial ovarian cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 16833–16847.
<https://doi.org/10.3390/ijms160816833>
- Nana-Sinkam, S. P., & Croce, C. M. (2013). Clinical applications for micrnas in cancer. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 93(1), 98–104. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.192>
- O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00402>
- Olejniczak, M., Kotowska-Zimmer, A., & Krzyzosiak, W. (2018). Stress-induced changes in miRNA biogenesis and functioning. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(2), 177–191.
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2591-0>
- Pal, M. K., Jaiswar, S. P., Dwivedi, V. N., Tripathi, A. K., Dwivedi, A., & Sankhwar, P. (2015). MicroRNA: A new and promising potential biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian cancer. *Cancer Biology & Medicine*, 12(4), 328–341. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0024>
- Palmero, E. I., Campos, S. G. P. de, Campos, M., Souza, N. C. N. de, Guerreiro, I. D. C., Carvalho, A. L., & Marques, M. M. C. (2011). Mechanisms and role of microRNA deregulation in cancer onset and progression. *Genetics and Molecular Biology*, 34, 363–370.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572011000300001>
- Peng, Y., & Croce, C. M. (2016). The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>
- Perron, M. P., & Provost, P. (2008). Protein interactions and complexes in human microRNA biogenesis and function. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library*, 13, 2537–2547. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2901379/>

- Pogribny, I. P. (2018). MicroRNAs as biomarkers for clinical studies. *Experimental Biology and Medicine*, 243(3), 283–290. <https://doi.org/10.1177/1535370217731291>
- Reza Mirzaei, H., Sahebkar, A., Mohammadi, M., Yari, R., Salehi, H., Hasan Jafari, M., Namdar, A., Khabazian, E., Reza Jaafari, M., & Mirzaei, H. (2016). Circulating micrnas in hepatocellular carcinoma: Potential diagnostic and prognostic biomarkers. *Current Pharmaceutical Design*, 22(34), 5257–5269.
- Samuel, P., & Carter, D. R. F. (2017). The diagnostic and prognostic potential of micrnas in epithelial ovarian carcinoma. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 21(1), 59–73. <https://doi.org/10.1007/s40291-016-0242-z>
- Sati, I. S. E. E., & Parhar, I. (2021). Micrnas regulate cell cycle and cell death pathways in glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13550. <https://doi.org/10.3390/ijms222413550>
- Shang, R., Lee, S., Senavirathne, G., & Lai, E. C. (2023). Micrnas in action: Biogenesis, function and regulation. *Nature Reviews Genetics*, 24(12), 816–833. <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00611-y>
- Sharma, P. C., & Gupta, A. (2020). MicroRNAs: Potential biomarkers for diagnosis and prognosis of different cancers. *Translational Cancer Research*, 9(9), 5798–5818. <https://doi.org/10.21037/tcr-20-1294>
- Shen, K., Cao, Z., Zhu, R., You, L., & Zhang, T. (2019). The dual functional role of MicroRNA-18a (Mir-18a) in cancer development. *Clinical and Translational Medicine*, 8(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s40169-019-0250-9>
- Slabáková, E., Culig, Z., Remšík, J., & Souček, K. (2017). Alternative mechanisms of miR-34a regulation in cancer. *Cell Death & Disease*, 8(10), e3100–e3100. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.495>
- Smolarz, B., Durczyński, A., Romanowicz, H., Szyłło, K., & Hogendorf, P. (2022). Mirnas in cancer(Review of literature). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2805. <https://doi.org/10.3390/ijms23052805>

- Stahlhut Espinosa, C. E., & Slack, F. J. (2006). The role of microRNAs in cancer. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 79(3–4), 131–140.
<https://europepmc.org/articles/PMC1994807>
- Sun, G., Yan, J., Noltner, K., Feng, J., Li, H., Sarkis, D. A., Sommer, S. S., & Rossi, J. J. (2009). SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function. *RNA*, 15(9), 1640–1651.
<https://doi.org/10.1261/rna.1560209>
- Takasaki, S. (2015). Roles of micrnas in cancers and development. In M. Sioud (Ed.), *RNA Interference: Challenges and Therapeutic Opportunities* (pp. 375–413). Springer.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1538-5_24
- Tang, J., Zhao, H., Cai, H., & Wu, H. (2015). Diagnostic and prognostic potentials of microRNA-27a in osteosarcoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 71, 222–226.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.01.025>
- Treiber, T., Treiber, N., & Meister, G. (2012). Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thrombosis and Haemostasis*, 107(4), 605–610. <https://doi.org/10.1160/TH11-12-0836>
- Tsai, M.-M., Wang, C.-S., Tsai, C.-Y., Huang, H.-W., Chi, H.-C., Lin, Y.-H., Lu, P.-H., & Lin, K.-H. (2016). Potential diagnostic, prognostic and therapeutic targets of micrnas in human gastric cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 945.
<https://doi.org/10.3390/ijms17060945>
- Tutar, L., Tutar, E., & Tutar, Y. (2014). Micrnas and cancer; an overview. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 15(5), 430–437.
- Uzuner, E., Ulu, G. T., Gürler, S. B., & Baran, Y. (2022). The role of mirna in cancer: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. In J. Allmer & M. Yousef (Eds.), *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis* (pp. 375–422). Springer US.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1170-8_18
- Vannini, I., Fanini, F., & Fabbri, M. (2018). Emerging roles of microRNAs in cancer. *Current Opinion in Genetics & Development*, 48, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.01.001>
- Ventura, A., & Jacks, T. (2009). MicroRNAs and cancer: Short RNAs go a long way. *Cell*, 136(4), 586–591. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.005>

- Villanueva, T. (2010). It's nicer with DICER. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), 531–531. <https://doi.org/10.1038/nrc2910>
- Vishwakarma, M., & Piddini, E. (2020). Outcompeting cancer. *Nature Reviews Cancer*, 20(3), 187–198. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0231-8>
- Vuong, B. Q., Lee, M., Kabir, S., Irimia, C., Macchiarulo, S., McKnight, G. S., & Chaudhuri, J. (2009). Specific recruitment of protein kinase A to the immunoglobulin locus regulates class-switch recombination. *Nature Immunology*, 10(4), 420–426. <https://doi.org/10.1038/ni.1708>
- Wiemer, E. A. C. (2007). The role of microRNAs in cancer: No small matter. *European Journal of Cancer*, 43(10), 1529–1544. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.04.002>
- Wu, H., Deng, Y., Feng, Y., Long, D., Ma, K., Wang, X., Zhao, M., Lu, L., & Lu, Q. (2018). Epigenetic regulation in B-cell maturation and its dysregulation in autoimmunity. *Cellular & Molecular Immunology*, 15(7), 676–684. <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.133>
- Wu, X.-M., Xi, Z.-F., Liao, P., Huang, H.-D., Huang, X.-Y., Wang, C., Ma, Y., Xia, Q., Yao, J.-G., & Long, X.-D. (2017). Diagnostic and prognostic potential of serum microRNA-4651 for patients with hepatocellular carcinoma related to aflatoxin B1. *Oncotarget*, 8(46), 81235–81249. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16027>
- Xue, J., Niu, J., Wu, J., & Wu, Z.-H. (2014). MicroRNAs in cancer therapeutic response: Friend and foe. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(4), 730–743. <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i4.730>
- Zhang, K., Zhang, Y., Liu, C., Xiong, Y., & Zhang, J. (2014). MicroRNAs in the diagnosis and prognosis of breast cancer and their therapeutic potential (Review). *International Journal of Oncology*, 45(3), 950–958. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2487>
- Zhao, C., Sun, X., & Li, L. (2019). Biogenesis and function of extracellular miRNAs. *ExRNA*, 1(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0039-4>
- Zimmerman, A. L., & Wu, S. (2011). MicroRNAs, cancer and cancer stem cells. *Cancer Letters*, 300(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.09.019>

