

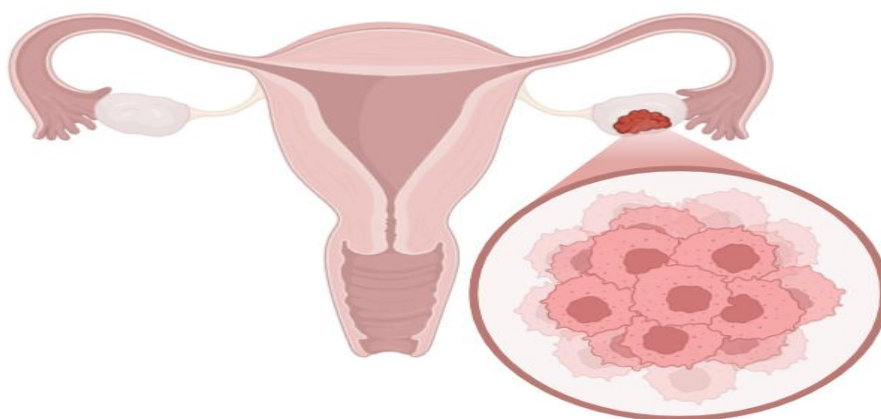


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
**«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ (κλινική χημεία, μικροβιολογία,
φαρμακολογία)»**

**Ο ρυθμιστικός ρόλος των miRNAs στην ανάπτυξη και εξέλιξη του
καρκίνου των ωοθηκών**



ΝΤΟΓΑ ΕΛΕΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΒΕΖΥΡΑΚΗ ΠΑΤΡΩΝΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ (κλινική χημεία, μικροβιολογία,
φαρμακολογία)»**

**Ο ρυθμιστικός ρόλος των miRNAs στην ανάπτυξη και εξέλιξη του
καρκίνου των ωοθηκών**

ΝΤΟΓΑ ΕΛΕΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΒΕΖΥΡΑΚΗ ΠΑΤΡΩΝΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026



**UNIVERSITY OF IOANNINA
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF MEDICINE**

POSTGRADUATE PROGRAMME “BASIC BIOMEDICAL SCIENCES”

**POSTGRADUATE SPECIALIZATION DIPLOMA
“APPLIED BIOMEDICINE (Clinical Chemistry, Microbiology, Pharmacology)”**

**The Regulatory Role of miRNAs in the Development and Progression
of Ovarian Cancer**

NTOGA ELENI

SUPERVISOR: PATRONA VEZYRAKI

IOANNINA 2026

«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)».

ΝΤΟΓΑ ΕΛΕΝΗ

**Ο ρυθμιστικός ρόλος των miRNAs στην ανάπτυξη και εξέλιξη του
καρκίνου των ωοθηκών**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Επιβλέπουσα: Βεζυράκη Πατρώνα, Ομότιμη Καθηγήτρια του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλος: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Ομότιμος Καθηγητής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλος: Σίμος Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν, άμεσα ή έμμεσα, στην εκπόνηση και ολοκλήρωσή της.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας, Ομότιμη Καθηγήτρια του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Βεζυράκη Πατρώνα, για την επιστημονική καθοδήγηση, την πολύτιμη υποστήριξη, το αδιάλειπτο και αμέριστο ενδιαφέρον, καθώς και τον χρόνο που διέθεσε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Ομότιμο Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Αγγελίδα Χαράλαμπο και τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Σίμο Ιωάννη, για τη συμμετοχή τους στην αξιολόγηση της παρούσας εργασίας και για τον χρόνο που αφιέρωσαν σε αυτή.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη στήριξη, την υπομονή και την ενθάρρυνσή της σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Η παρουσία και η υποστήριξή τους αποτέλεσαν για εμένα πολύτιμο στήριγμα σε κάθε στάδιο αυτής της πορείας.

Στην οικογένεια μου

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες», στην κατεύθυνση «Εφαρμοσμένη Βιοϊατρική» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Αντικείμενο της εργασίας αποτελεί η διερεύνηση του ρυθμιστικού ρόλου των microRNAs (miRNAs) στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών. Η επιλογή του συγκεκριμένου θέματος βασίστηκε στο αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον για τη συμμετοχή των miRNAs στους μοριακούς μηχανισμούς της καρκινογένεσης και στις δυνατότητες κλινικής αξιοποίησής τους. Στόχος της εργασίας είναι η συγκέντρωση και κριτική παρουσίαση των σύγχρονων βιβλιογραφικών δεδομένων σχετικά με τον βιολογικό ρόλο των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών, τη σημασία τους ως πιθανών βιοδεικτών και τη συμμετοχή τους στη θεραπευτική ανταπόκριση και αντοχή. Παράλληλα, εξετάζονται οι προοπτικές αξιοποίησής τους ως θεραπευτικών στόχων και η πιθανή συμβολή τους στην ανάπτυξη πιο εξατομικευμένων προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών.

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η διερεύνηση του ρυθμιστικού ρόλου των miRNAs στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών, καθώς και η αξιολόγηση της πιθανής κλινικής τους αξιοποίησης. Για την εκπόνηση της εργασίας πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση της σύγχρονης διεθνούς βιβλιογραφίας, με έμφαση σε πρόσφατες μελέτες σχετικά με τη μοριακή βιολογία και την κλινική σημασία των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί μια ετερογενή κακοήθεια του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος, η οποία συχνά διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο και χαρακτηρίζεται από υψηλή συχνότητα υποτροπής και ανάπτυξης θεραπευτικής αντοχής. Τα microRNAs (miRNAs) είναι μικρά μη κωδικά μόρια RNA που ρυθμίζουν μετα-μεταγραφικά τη γονιδιακή έκφραση και συμμετέχουν στον έλεγχο πολλών κυτταρικών διεργασιών. Συγκεκριμένα miRNAs μπορούν να ασκούν ογκογόνο ή ογκοκατασταλτική δράση, ενώ η απορρύθμιση της έκφρασής τους μπορεί να επηρεάζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση, την επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση, τη μεταστατική διασπορά, την αγγειογένεση και τις αλληλεπιδράσεις με το μικροπεριβάλλον του όγκου. Παράλληλα, τα miRNAs παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως δυνητικοί διαγνωστικοί και προγνωστικοί βιοδείκτες και ως δείκτες θεραπευτικής ανταπόκρισης, ενώ διερευνάται και η άμεση θεραπευτική στόχευσή τους μέσω miRNA mimics και αναστολέων miRNAs. Ωστόσο, η ετερογένεια των διαθέσιμων μελετών, η έλλειψη τυποποιημένων μεθόδων και οι δυσκολίες που σχετίζονται με την ασφαλή και εκλεκτική χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων που βασίζονται σε miRNAs περιορίζουν προς το παρόν την κλινική εφαρμογή τους. Συνολικά, τα miRNAs αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας στον καρκίνο των ωοθηκών, με τη μελλοντική κλινική αξιοποίησή τους να συνδέεται με την ενσωμάτωσή τους σε πολυπαραγοντικές και εξατομικευμένες προσεγγίσεις, συμπεριλαμβανομένης της αξιοποίησης πολυ-ομικών δεδομένων και μεθόδων τεχνητής νοημοσύνης.

Λέξεις κλειδιά: καρκίνος των ωοθηκών, miRNAs, ογκογονίδια, ογκοκατασταλτικά γονίδια, βιοδείκτες, θεραπευτική αντοχή, εξατομικευμένη ιατρική

Abstract

The aim of this literature review is to investigate the regulatory role of miRNAs in the development and progression of ovarian cancer and to evaluate their potential clinical applications. For this purpose, a review of contemporary international literature was conducted, with particular emphasis on recent studies addressing the molecular biology and clinical significance of miRNAs in ovarian cancer. Ovarian cancer is a heterogeneous malignancy of the female reproductive system that is frequently diagnosed at an advanced stage and is characterized by high rates of recurrence and the development of therapeutic resistance. MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNA molecules that regulate gene expression at the post-transcriptional level and are involved in the control of numerous cellular processes. Specific miRNAs can exert oncogenic or tumor-suppressive effects, while dysregulation of their expression can influence cell proliferation, apoptosis, epithelial–mesenchymal transition, metastatic dissemination, angiogenesis, and interactions within the tumor microenvironment. Furthermore, miRNAs have emerged as potential diagnostic and prognostic biomarkers and as indicators of therapeutic response, while their direct therapeutic targeting through miRNA mimics and miRNA inhibitors is also under investigation. However, the heterogeneity of the available studies, the lack of standardized methodologies, and the challenges associated with the safe and selective delivery of miRNA-based therapeutic agents currently limit their clinical application. Overall, miRNAs represent a promising field of research in ovarian cancer, with their future clinical application likely to depend on their integration into multifactorial and personalized approaches, including the use of multi-omics data and artificial intelligence methods.

Keywords: ovarian cancer, miRNAs, oncogenes, tumor suppressor genes, biomarkers, therapeutic resistance, personalized medicine

Κατάλογος συντομογραφιών

Συντομογραφία	Αγγλικός όρος	Ελληνικός όρος
AI	Artificial Intelligence	Τεχνητή νοημοσύνη
AUC	Area Under the Curve	Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη
BER	Base Excision Repair	Επιδιόρθωση μέσω εκτομής βάσεων
CA-125	Cancer Antigen 125	Καρκινικό αντιγόνο 125
CAFs	Cancer-Associated Fibroblasts	Ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο
cDNA	Complementary DNA	Συμπληρωματικό DNA
CDS	Coding sequence	Κωδικοποιούσα αλληλουχία
CDKs	Cyclin-dependent kinases	Κυκλινοεξαρτώμενη κινάση
CI	Confidence Interval	Διάστημα εμπιστοσύνης
CT	Computed Tomography	Αξονική τομογραφία
DDR	DNA Damage Response	Απόκριση σε βλάβες του DNA
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
EBV	Epstein–Barr Virus	Ιός Epstein–Barr
ECM	Extracellular Matrix	Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία
EMT	Epithelial–Mesenchymal Transition	Επιθηλιομεσεγχυματική μετάβαση
EVs	Extracellular Vesicles	Εξωκυττάρια κυστίδια
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics	Διεθνής Ομοσπονδία Γυναικολογίας και Μαιευτικής
FSH	Follicle-Stimulating Hormone	Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
GnRH	Gonadotropin-Releasing Hormone	Εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών
HBOC	Hereditary Breast and Ovarian Cancer	Κληρονομικός καρκίνος μαστού και ωοθηκών
HBV	Hepatitis B Virus	Ιός της ηπατίτιδας Β
HCV	Hepatitis C Virus	Ιός της ηπατίτιδας C
HE4	Human Epididymis Protein 4	Ανθρώπινη επιδιδυμική πρωτεΐνη 4

Συντομογραφία	Αγγλικός όρος	Ελληνικός όρος
HGSOC	High-Grade Serous Ovarian Carcinoma	Υψηλού βαθμού ορώδες καρκίνωμα ωοθηκών
HPV	Human Papillomavirus	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων
HR	Hazard Ratio	Λόγος κινδύνων
HRD	Homologous Recombination Deficiency	Ανεπάρκεια ομόλογου ανασυνδυασμού
IARC	International Agency for Research on Cancer	Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο
IDS	Interval Debulking Surgery	Ενδιάμεση κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση
ISH	In Situ Hybridization	Υβριδισμός in situ
LGSOC	Low-Grade Serous Ovarian Carcinoma	Χαμηλού βαθμού ορώδες καρκίνωμα ωοθηκών
LH	Luteinizing Hormone	Ωχρινοτρόπος ορμόνη
lncRNAs	Long Non-Coding RNAs	Μακρά μη κωδικοποιητικά RNAs
miRNA	MicroRNA	Μικρό μη κωδικοποιητικό RNA
c-miRNA	circulating microRNAs	κυκλοφορούντα microRNA
MMR	Mismatch Repair	Επιδιόρθωση λανθασμένων ζευγών βάσεων
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική τομογραφία
mRNA	Messenger RNA	Αγγελιαφόρο RNA
NACT	Neoadjuvant Chemotherapy	Νεοεπικουρική χημειοθεραπεία
NER	Nucleotide Excision Repair	Επιδιόρθωση μέσω εκτομής νουκλεοτιδίων
NGS	Next-Generation Sequencing	Αλληλούχηση νέας γενιάς
NHEJ	Non-Homologous End Joining	Μη ομόλογη σύνδεση άκρων
OS	Overall Survival	Συνολική επιβίωση
PARN	poly(A)-specific ribonuclease	πολυ(A)-ειδική ριβονουκλεάση
PARP	Poly(ADP-Ribose) Polymerase	Πολυμεράση της πολυ(ADP-ριβόζης)
PARPi	Poly (ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors	Αναστολείς της πολυμεράσης της πολυ(ADP-ριβόζης)

Συντομογραφία	Αγγλικός όρος	Ελληνικός όρος
PDCD4	Programmed cell death 4	Πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 4
PCR	Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PDS	Primary Debulking Surgery	Πρωτογενής κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση
PFS	Progression-Free Survival	Επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου
pre-miRNA	Precursor microRNA	Πρόδρομο microRNA
pri-miRNA	Primary microRNA	Πρωτογενές microRNA
RBP s	RNA-binding proteins, RBPs	Πρωτεΐνες που δεσμεύουν RNA
RISC	RNA-Induced Silencing Complex	Σύμπλοκο αποσιώπησης επαγόμενο από RNA
RNA	Ribonucleic Acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
RNA-seq	RNA Sequencing	Αλληλούχηση RNA
ROC	Receiver Operating Characteristic	Χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας δέκτη
ROMA	Risk of Ovarian Malignancy Algorithm	Αλγόριθμος κινδύνου κακοήθειας των ωοθηκών
RT-qPCR	Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction	Ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με αντίστροφη μεταγραφή
STIC	Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma	Ορώδες ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα της σάλπιγγας
TCGA	The Cancer Genome Atlas	Άτλαντας του γονιδιώματος του καρκίνου
TDMD	Target-Directed miRNA Degradation	Κατευθυνόμενη από τον στόχο αποικοδόμηση των miRNAs
TME	Tumor Microenvironment	Μικροπεριβάλλον του όγκου
UTR	Untranslated Region	Μη μεταφραζόμενη περιοχή
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
XPO5	Exportin-5	Εξπορτίνη-5

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	9
Περίληψη	10
Abstract.....	11
Κατάλογος συντομογραφιών.....	12
Κεφάλαιο 1 ^ο : Εισαγωγή στον καρκίνο – Θεμελιώδεις έννοιες.....	20
1.1 Ορισμός και βασικά χαρακτηριστικά	20
1.2 Μοριακή βάση της καρκινογένεσης.....	24
1.2.1 Πρωτο-ογκογονίδια και ογκογονίδια	25
1.2.2 Ογκοκατασταλτικά γονίδια.....	26
1.2.3 Γονίδια επιδιόρθωσης του DNA και μηχανισμοί	27
1.2.4 Επιγενετικοί μηχανισμοί και ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης.....	28
1.3 Παράγοντες κινδύνου για την καρκινογένεση.....	28
1.3.1 Γενετικοί και κληρονομικοί παράγοντες	29
1.3.2 Περιβαλλοντικοί και λοιμώδεις παράγοντες.....	29
1.3.3 Παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής.....	30
1.4 Ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου.....	30
1.4.1 Πολυσταδιακή καρκινογένεση	30
1.4.2 Κλωνική εξέλιξη και ενδοογκική ετερογένεια	31
1.4.3 Μικροπεριβάλλον του όγκου.....	31
1.4.4 Διήθηση και μετάσταση.....	31
Κεφάλαιο 2 ^ο : Καρκίνος των ωοθηκών.....	33
2.1 Εισαγωγή.....	33
2.2 Ανατομία και φυσιολογία των ωοθηκών	33
2.2.1 Ανατομία των ωοθηκών	33
2.2.2 Φυσιολογία των ωοθηκών	35
2.3 Επιδημιολογικά δεδομένα	36
2.4 Παράγοντες κινδύνου και προστατευτικοί παράγοντες.....	37
2.4.1 Γενετικοί και κληρονομικοί παράγοντες	38
2.4.2 Αναπαραγωγικοί και ορμονικοί παράγοντες.....	38
2.4.3 Λοιποί παράγοντες κινδύνου	39
2.5 Ιστοπαθολογική και μοριακή ταξινόμηση.....	39
2.5.1 Επιθηλιακοί όγκοι.....	40
2.5.2 Μη επιθηλιακοί όγκοι.....	41
2.6 Παθοφυσιολογία.....	42

2.7 Κλινική εικόνα και διάγνωση.....	44
2.7.1 Κλινική εικόνα.....	44
2.7.2 Διαγνωστική προσέγγιση και βιοδείκτες.....	45
2.8 Σταδιοποίηση FIGO.....	46
2.9 Πρόγνωση και προγνωστικοί παράγοντες.....	47
2.10 Θεραπευτική αντιμετώπιση.....	48
2.10.1 Χειρουργική αντιμετώπιση.....	48
2.10.2 Χημειοθεραπεία.....	49
2.10.3 Στοχευμένες θεραπείες και θεραπεία συντήρησης.....	50
Κεφάλαιο 3^ο: Μοριακή βιολογία των microRNAs (miRNAs) – Βιογένεση, λειτουργία και ρύθμιση.....	51
3.1 Εισαγωγή στα microRNA (miRNAs).....	51
3.2 Βιογένεση των miRNAs.....	52
3.2.1 Κανονική οδός βιογένεσης των miRNAs.....	52
3.2.2 Μη κανονικές οδοί βιογένεσης των miRNAs.....	54
3.3 Χαρακτηριστικά και μηχανισμοί δράσης των miRNAs.....	55
3.4 Βιολογικές λειτουργίες των miRNAs στην κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση.....	56
3.5 Ρύθμιση της έκφρασης των miRNAs.....	57
3.5.1 Μεταγραφική και επιγενετική ρύθμιση.....	58
3.5.2 Μετα-μεταγραφική ρύθμιση.....	58
3.6 Κυκλοφορούντα miRNAs (circulating miRNAs).....	59
3.7 Μέθοδοι απομόνωσης, ανίχνευσης και μελέτης των miRNAs.....	60
3.7.1 Απομόνωση των miRNAs.....	60
3.7.2 Μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των miRNAs.....	61
Κεφάλαιο 4^ο: Ρυθμιστικός ρόλος των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών.....	65
4.1 Απορρύθμιση της έκφρασης των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών.....	65
4.2 Ογκογόνα miRNAs.....	66
4.3 Ογκοκατασταλτικά miRNAs.....	69
4.4 Ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του κυτταρικού κύκλου.....	71
4.5 Ρύθμιση της απόπτωσης.....	72
4.6 Επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση (EMT).....	73
4.7 Διήθηση, κυτταρική κινητικότητα και διαπεριτοναϊκή μεταστατική διασπορά...75	
4.8 Ρύθμιση της αγγειογένεσης.....	76
4.9 Αλληλεπιδράσεις με το μικροπεριβάλλον του όγκου.....	76
Κεφάλαιο 5^ο: miRNAs ως βιοδείκτες στον καρκίνο των ωοθηκών.....	79

5.1 Κλινική σημασία των miRNAs ως βιοδεικτών.....	79
5.2 Διαγνωστική αξία των miRNAs	79
5.3 Προγνωστική αξία των miRNAs	82
5.4 Συνδυαστικά πάνελ miRNAs και συμβατικοί βιοδείκτες	83
5.5 Περιορισμοί και προοπτικές κλινικής εφαρμογής	85
Κεφάλαιο 6^ο: miRNAs στη θεραπευτική ανταπόκριση και ως θεραπευτικοί στόχοι στον καρκίνο των ωοθηκών.....	86
6.1 miRNAs και θεραπευτική ανταπόκριση.....	86
6.2 miRNAs και αντοχή στη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα	86
6.3 miRNAs και αντοχή στις ταξάνες	88
6.4 miRNAs και απόκριση στους αναστολείς PARP.....	89
6.5 Θεραπευτική στόχευση των miRNAs	90
6.5.1 miRNA mimics.....	90
6.5.2 Αναστολείς miRNAs και antagomiR.....	91
6.5.3 Συστήματα χορήγησης	92
6.6 Περιορισμοί και προκλήσεις της θεραπευτικής αξιοποίησης των miRNAs.....	93
Κεφάλαιο 7^ο: Μελλοντικές προοπτικές και νέες προσεγγίσεις.....	95
7.1 Προοπτικές κλινικής αξιοποίησης των miRNAs	95
7.2 Εξατομικευμένη ιατρική και πολυ-ομικές προσεγγίσεις.....	96
7.3 Τεχνητή Νοημοσύνη και υπολογιστικές προσεγγίσεις στη μελέτη των miRNAs...	97
Κεφάλαιο 8^ο: Συμπεράσματα – Συζήτηση	99
Βιβλιογραφία	100

Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1:	Σχηματική απεικόνιση της φυσιολογικής κυτταρικής ανάπτυξης και της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων	20
Εικόνα 2:	Σχηματική απεικόνιση των βασικών σταδίων της μεταστατικής διαδικασίας, από την τοπική διήθηση του πρωτοπαθούς όγκου έως την εγκατάσταση και ανάπτυξη μεταστατικής εστίας σε απομακρυσμένο ιστό	23
Εικόνα 3:	Σχηματική απεικόνιση του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος	34
Εικόνα 4:	Παγκόσμια κατανομή των ηλικιακά προτυποποιημένων δεικτών επίπτωσης (Α) και θνησιμότητας (Β) του καρκίνου των ωοθηκών ανά 100.000 γυναίκες .	37
Εικόνα 5:	Κανονική και μη κανονικές οδοί βιογένεσης των miRNAs	54
Εικόνα 6:	Σχηματική αναπαράσταση των κύριων αναλυτικών προσεγγίσεων για τη μελέτη των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών	62
Εικόνα 7:	Μοριακός μηχανισμός μέσω του οποίου το miR-506 αναστέλλει την επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση (EMT) στον καρκίνο των ωοθηκών	74
Εικόνα 8:	Σχηματική απεικόνιση του μικροπεριβάλλοντος του καρκίνου των ωοθηκών και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυτταρικών συστατικών του	77
Εικόνα 9:	Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των μεμονωμένων miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών	81
Εικόνα 10:	Διάγραμμα SROC για πιθανή συμβολή των miRNAs στην ανίχνευση του καρκίνου των ωοθηκών στο στάδιο I και στάδιο II	81
Εικόνα 11:	Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των πάνελ miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών	83
Εικόνα 12:	Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας του συνδυασμού πάνελ miRNAs με CA-125 και HE4	84
Εικόνα 13:	Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών αντοχής και ευαισθησίας στα φάρμακα πλατίνας (όπως η σισπλατίνη) στα καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών	87
Εικόνα 14:	Σχηματική αναπαράσταση της δράσης των miRNA mimics στη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών	90
Εικόνα 15:	Σχηματική απεικόνιση της θεραπευτικής προσέγγισης της αναστολής ογκογόνων miRNAs (anti-miRNA) στον καρκίνο των ωοθηκών	92

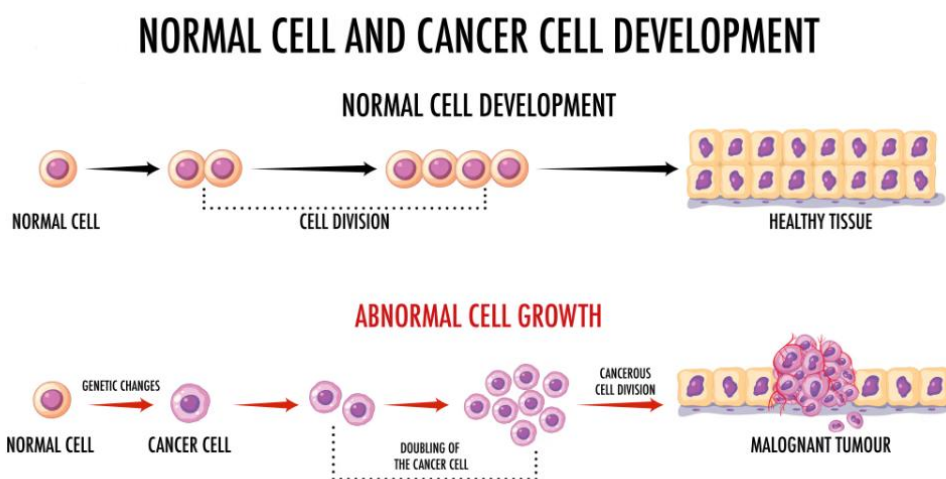
Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Αντιπροσωπευτικά ογκογονίδια, κύριοι μηχανισμοί ενεργοποίησης και συσχέτιση με ανθρώπινες κακοήθειες	26
Πίνακας 2: Κύρια ιστοπαθολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά των επιθηλιακών καρκινωμάτων των ωοθηκών.....	41
Πίνακας 3: Σταδιοποίηση του καρκίνου των ωοθηκών σύμφωνα με το σύστημα FIGO.....	47
Πίνακας 4: Κύριες μέθοδοι ανίχνευσης και μελέτης των miRNAs	63
Πίνακας 5: Επιλεγμένα ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών	70

Κεφάλαιο 1^ο : Εισαγωγή στον καρκίνο – Θεμελιώδεις έννοιες

1.1 Ορισμός και βασικά χαρακτηριστικά

Ο καρκίνος αποτελεί έναν γενικό όρο που περιγράφει μια μεγάλη και ετερογενή ομάδα νοσημάτων, τα οποία χαρακτηρίζονται από την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό κυττάρων που έχουν υποστεί γενετικές και επιγενετικές τροποποιήσεις. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν διαταραχή των φυσιολογικών μηχανισμών ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου και αυξημένη ικανότητα επιβίωσης, ενώ μπορούν να εισβάλλουν σε γειτονικούς ιστούς και να διασπείρονται σε απομακρυσμένες ανατομικές θέσεις μέσω της διαδικασίας της μετάστασης [1]. Η βασική διαφοροποίηση μεταξύ της φυσιολογικής κυτταρικής ανάπτυξης και της ανεξέλεγκτης ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων απεικονίζεται σχηματικά στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση της φυσιολογικής κυτταρικής ανάπτυξης και της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων. Πηγή: brgfx/Freepik.

Σύμφωνα με σύγχρονες επιστημονικές προσεγγίσεις, ο καρκίνος δεν αποτελεί μία μεμονωμένη νόσο, αλλά μπορεί να θεωρηθεί ως μια δυναμική εξελικτική διαδικασία, κατά την οποία πληθυσμοί μετασχηματισμένων κυττάρων υφίστανται διαδοχικές γενετικές και επιγενετικές τροποποιήσεις και εξελίσσονται υπό την επίδραση της φυσικής επιλογής. Υπό αυτό το πρίσμα, ο καρκίνος έχει περιγραφεί ως νόσος ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού μετασχηματισμένων κυττάρων, τα οποία υπόκεινται σε εξελικτικές διαδικασίες φυσικής επιλογής [2]. Η προσέγγιση αυτή

αναδεικνύει τη δυναμική φύση της καρκινογένεσης και συμβάλλει στην κατανόηση της προοδευτικής απόκτησης χαρακτηριστικών που ευνοούν την επιβίωση και εξέλιξη των καρκινικών κυτταρικών πληθυσμών.

Σε μοριακό επίπεδο, η καρκινογένεση σχετίζεται με τη συσσώρευση γενετικών και επιγενετικών αλλοιώσεων που επηρεάζουν κρίσιμες κατηγορίες γονιδίων, όπως τα πρωτο-ογκογονίδια, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια και τα γονίδια που συμμετέχουν στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Οι μεταβολές αυτές διαταράσσουν τη φυσιολογική ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της επιβίωσης και της γονιδιωματικής ακεραιότητας. Παράλληλα, η ανάπτυξη γονιδιωματικής αστάθειας ευνοεί την εμφάνιση και συσσώρευση πρόσθετων γενετικών αλλοιώσεων, συμβάλλοντας στην εξέλιξη και την ετερογένεια του όγκου [3].

Οι θεμελιώδεις βιολογικές ιδιότητες που αποκτούν τα καρκινικά κύτταρα κατά την εξέλιξη της νόσου έχουν περιγραφεί στο ευρέως αποδεκτό θεωρητικό πλαίσιο των «Χαρακτηριστικών του Καρκίνου» (*Hallmarks of Cancer*). Το μοντέλο αυτό διατυπώθηκε από τους Hanahan και Weinberg και, στη συνέχεια, εμπλουτίστηκε καθώς εξελίχθηκε η κατανόηση της μοριακής και κυτταρικής βιολογίας του καρκίνου [4], [5]. Στο σύγχρονο αυτό πλαίσιο περιλαμβάνονται η διατήρηση της πολλαπλασιαστικής ικανότητας, η αποφυγή των μηχανισμών καταστολής της κυτταρικής ανάπτυξης, η αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο, η αθανатоποίηση καρκινικών κυττάρων, η επαγωγή της αγγείωσης, η ενεργοποίηση της διήθησης και της μετάστασης, η ικανότητα αποφυγής από την ανοσολογική επιτήρηση (ανοσοδιαφυγή) και ο επαναπρογραμματισμός του κυτταρικού μεταβολισμού [4], [5].

Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του καρκίνου είναι η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να διατηρούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού, ακόμη και απουσία των φυσιολογικών εξωκυττάρων ερεθισμάτων. Η απορρύθμιση αυτή επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης ογκογονιδίων ή δυσλειτουργίας ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης που φυσιολογικά ελέγχουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση. Παράλληλα, η απώλεια ή δυσλειτουργία ογκοκατασταλτικών μηχανισμών επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να διαφεύγουν από τους φυσιολογικούς περιορισμούς της κυτταρικής ανάπτυξης [4], [5].

Στη διατήρηση του ανεξέλεγκτου κυτταρικού πολλαπλασιασμού συμβάλλει, επίσης, η αθανатоποίηση καρκινικών κυττάρων. Τα τελομερή αποτελούν

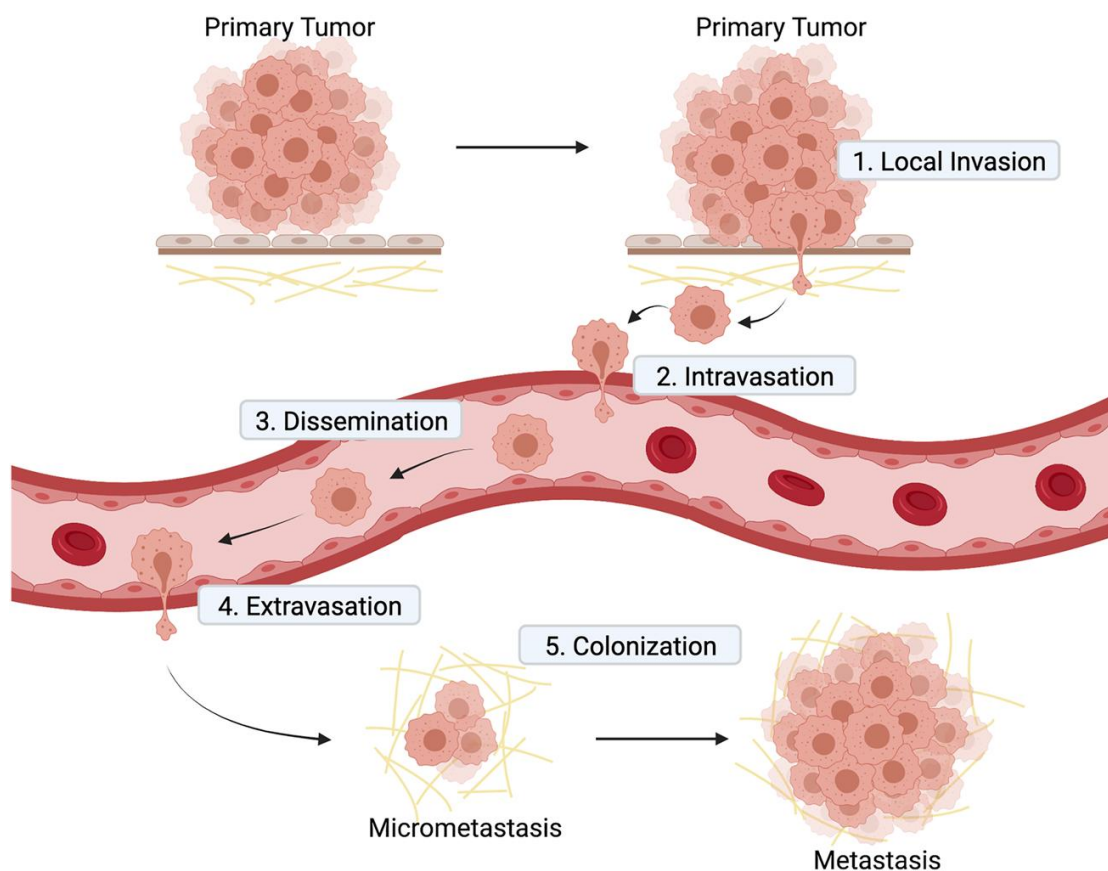
εξειδικευμένες δομές στα άκρα των χρωμοσωμάτων, οι οποίες συμβάλλουν στη διατήρηση της χρωμοσωμικής σταθερότητας. Στα περισσότερα φυσιολογικά σωματικά κύτταρα, τα τελομερή βραχύνονται προοδευτικά κατά τις διαδοχικές κυτταρικές διαιρέσεις και, όταν φθάσουν σε κρίσιμο μήκος, ενεργοποιούνται μηχανισμοί απόκρισης στη βλάβη του DNA που μπορούν να οδηγήσουν σε κυτταρική γήρανση ή κυτταρικό θάνατο. Αντίθετα, στα καρκινικά κύτταρα η διατήρηση του μήκους των τελομερών, συχνότερα μέσω επανενεργοποίησης της τελομεράσης, επιτρέπει τη συνέχιση των κυτταρικών διαιρέσεων και συμβάλλει στη διατήρηση της ικανότητάς τους για συνεχή πολλαπλασιασμό [4], [6].

Ένα επιπλέον θεμελιώδες χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων είναι ότι δεν υφίστανται απόπτωση. Η απόπτωση είναι ένας τύπος προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, μέσω του οποίου απομακρύνονται, μεταξύ άλλων, κύτταρα που έχουν υποστεί σοβαρές ή μη επιδιορθώσιμες βλάβες. Κατά την καρκινογένεση, η διαταραχή των αποπτωτικών μηχανισμών επιτρέπει την επιβίωση τέτοιων κυττάρων, ευνοώντας τη συσσώρευση πρόσθετων μοριακών αλλοιώσεων και την εξέλιξη του κακοήθους φαινοτύπου [7], [8].

Η επαγωγή της αγγειογένεσης συνιστά ακόμα ένα κρίσιμο χαρακτηριστικό για τη διατήρηση και περαιτέρω ανάπτυξη του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να διεγείρουν τον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων ή να αξιοποιούν προϋπάρχοντα αγγειακά δίκτυα, εξασφαλίζοντας την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών και την απομάκρυνση μεταβολικών προϊόντων. Η αγγείωση υποστηρίζει την περαιτέρω ανάπτυξη του όγκου και μπορεί, παράλληλα, να διευκολύνει τη δημιουργία μεταστάσεων [4], [5].

Ιδιαίτερης σημασίας είναι, επίσης, η ικανότητα διήθησης και μετάστασης, η οποία διαφοροποιεί τους κακοήθεις από τους καλοήθεις όγκους. Η μετάσταση συνιστά μια σύνθετη και πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία καρκινικά κύτταρα αποσπώνται από τον πρωτοπαθή όγκο, διαταράσσουν τους φυσιολογικούς ιστικούς φραγμούς και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και διηθούν τους παρακείμενους ιστούς. Στη συνέχεια, μπορούν να εισέλθουν στην αιματική ή λεμφική κυκλοφορία, να επιβιώσουν κατά τη μεταφορά τους, να εξέλθουν από αυτή σε απομακρυσμένες ανατομικές θέσεις και, εφόσον επικρατούν κατάλληλες συνθήκες, να εγκατασταθούν και να αναπτυχθούν σχηματίζοντας δευτερογενείς μεταστατικές εστίες [5], [9]. Τα

διαδοχικά στάδια της μεταστατικής διαδικασίας παρουσιάζονται σχηματικά στην Εικόνα 2.



Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση των βασικών σταδίων της μεταστατικής διαδικασίας, από την τοπική διήθηση του πρωτοπαθούς όγκου έως την εγκατάσταση και ανάπτυξη μεταστατικής εστίας σε απομακρυσμένο ιστό. Πηγή: Bui et al., 2021[10].

Επιπλέον, η καρκινική ανάπτυξη συνοδεύεται από σημαντικές μεταβολές του κυτταρικού μεταβολισμού. Ο μεταβολικός επαναπρογραμματισμός επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να προσαρμόζονται στις αυξημένες ενεργειακές και βιοσυνθετικές απαιτήσεις που συνοδεύουν τον συνεχή πολλαπλασιασμό, καθώς και στις μεταβαλλόμενες συνθήκες του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Παράλληλα, τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να αναπτύσσουν μηχανισμούς ανοσοδιαφυγής, μέσω των οποίων περιορίζουν την αναγνώριση και την εξάλειψή τους από το ανοσοποιητικό σύστημα, διευκολύνοντας την επιβίωση και την εξέλιξη του όγκου [4], [5].

Καθοριστικό ρόλο στην καρκινική εξέλιξη διαδραματίζει, επίσης, το μικροπεριβάλλον του όγκου (*tumor microenvironment*, TME), το οποίο αποτελεί ένα δυναμικό και σύνθετο οικοσύστημα αλληλεπιδράσεων μεταξύ των καρκινικών

κυττάρων και ποικίλων κυτταρικών και μη κυτταρικών συστατικών. Σε αυτά περιλαμβάνονται, μεταξύ άλλων, οι ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Η αμφίδρομη επικοινωνία μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του μικροπεριβάλλοντός τους μπορεί να προάγει την κυτταρική επιβίωση, την αγγειογένεση, την ανοσοδιαφυγή, τη διήθηση και τη μετάσταση, ενώ παράλληλα μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη θεραπευτικής αντοχής [11], [12]. Η σημασία του μικροπεριβάλλοντος στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου αναλύεται περαιτέρω σε επόμενη ενότητα.

Στο πλαίσιο των νεότερων ερευνητικών προσεγγίσεων έχει αναδειχθεί, επίσης, το ενδιαφέρον για τη βιοηλεκτρική ρύθμιση των καρκινικών κυττάρων και, ειδικότερα, για τις μεταβολές του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης (*membrane potential*, V_m). Το δυναμικό της μεμβράνης καθορίζεται από την άνιση κατανομή ιόντων εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης και τη λειτουργία ιοντικών διαύλων, αντλιών και μεταφορέων. Η δυσρύθμιση των μηχανισμών αυτών και οι επακόλουθες μεταβολές του V_m έχουν συσχετιστεί με διεργασίες που αφορούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εξέλιξη του κακοήθους φαινοτύπου. Η απορρύθμιση του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης έχει προταθεί πρόσφατα ως ένα πιθανό νέο χαρακτηριστικό του καρκίνου, χωρίς ωστόσο να αποτελεί μέχρι σήμερα μέρος του καθιερωμένου πλαισίου των *Hallmarks of Cancer* [13].

Συνολικά, τα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου δεν αποτελούν ανεξάρτητα φαινόμενα, αλλά προκύπτουν από ένα πολύπλοκο και δυναμικό δίκτυο γενετικών, επιγενετικών, κυτταρικών και μικροπεριβαλλοντικών μεταβολών που εξελίσσονται κατά την πορεία της καρκινογένεσης. Η κατανόηση των μηχανισμών αυτών αποτελεί τη βάση για την ερμηνεία της βιολογικής συμπεριφοράς των κακοήθων νεοπλασμάτων και την ανάπτυξη νέων διαγνωστικών, προγνωστικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων.

1.2 Μοριακή βάση της καρκινογένεσης

Η καρκινογένεση, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, είναι αποτέλεσμα συσσώρευσης γενετικών και επιγενετικών αλλαγών που διαταράσσουν τη φυσιολογική ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης, των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA και της γονιδιακής έκφρασης. Οι γενετικές αλλοιώσεις περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, σημειακές

μεταλλάξεις, γονιδιακές ενισχύσεις και χρωμοσωμικές αναδιατάξεις, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση πρωτο-ογκογονιδίων ή στην απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Παράλληλα, επιγενετικές μεταβολές, όπως η μεθυλίωση του DNA και οι τροποποιήσεις των ιστονών, επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση χωρίς να μεταβάλλουν την αλληλουχία του DNA. Οι διαταραχές αυτές μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη γονιδιωματικής αστάθειας και στην εξέλιξη του κακοήθους φαινοτύπου [3], [4], [5]. Στις επόμενες υποενότητες αναλύονται οι κυριότεροι μοριακοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή.

1.2.1 Πρωτο-ογκογονίδια και ογκογονίδια

Τα πρωτο-ογκογονίδια αποτελούν φυσιολογικά γονίδια που συμμετέχουν στη ρύθμιση θεμελιωδών κυτταρικών λειτουργιών, όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η επιβίωση. Η ενεργοποίησή τους υπό φυσιολογικές συνθήκες ελέγχεται αυστηρά, ώστε να διατηρείται η κυτταρική ομοιόσταση. Ωστόσο, γενετικές αλλοιώσεις που αυξάνουν την έκφρασή τους μπορούν να οδηγήσουν στη μετατροπή τους σε ογκογονίδια, τα οποία προάγουν την ανεξέλεγκτη κυτταρική ανάπτυξη και συμβάλλουν στην καρκινογένεση [14], [15].

Η ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω διαφορετικών γενετικών μηχανισμών, με κυριότερους τις σημειακές μεταλλάξεις, τη γονιδιακή ενίσχυση και τις χρωμοσωμικές αναδιατάξεις. Οι μεταβολές αυτές μπορούν είτε να τροποποιήσουν τη λειτουργία του κωδικοποιούμενου γονιδιακού προϊόντος είτε να οδηγήσουν σε αυξημένη ή μη φυσιολογικά ρυθμιζόμενη έκφρασή του [14], [15].

Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα γονίδια KRAS, MYC, ERBB2 (HER2) και BCR::ABL1, τα οποία ενεργοποιούνται μέσω διαφορετικών μοριακών μηχανισμών. Το KRAS ενεργοποιείται χαρακτηριστικά μέσω σημειακών μεταλλάξεων, ενώ η ενεργοποίηση του MYC μπορεί να προκύψει μέσω χρωμοσωμικής αναδιάταξης ή γονιδιακής ενίσχυσης. Αντίστοιχα, η γονιδιακή ενίσχυση του ERBB2 οδηγεί σε αυξημένη έκφραση του αντίστοιχου γονιδιακού προϊόντος, ενώ η χρωμοσωμική αναδιάταξη που δημιουργεί το BCR::ABL1 οδηγεί στον σχηματισμό ογκογονικής χιμαιρικής πρωτεΐνης [15]. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ογκογονιδίων, οι κυριότεροι μηχανισμοί ενεργοποίησής τους και η συσχέτισή τους με διαφορετικούς τύπους καρκίνου παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Αντιπροσωπευτικά ογκογονίδια, κύριοι μηχανισμοί ενεργοποίησης και συσχέτιση με ανθρώπινες κακοήθειες. Πηγή: Προσαρμογή από Fearon και Bommer [15]

Ογκογονίδιο	Κύρια λειτουργία	Μηχανισμός ενεργοποίησης	Ενδεικτικές κακοήθειες
KRAS	Μεταγωγή ενδοκυττάρων σημάτων	Σημειακή μετάλλαξη	Καρκίνος παγκρέατος, παχέος εντέρου και πνεύμονα
MYC	Μεταγραφική ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού	Χρωμοσωμική αναδιάταξη ή γονιδιακή ενίσχυση	Λέμφωμα Burkitt
ERBB2 (HER2)	Υποδοχέας τυροσινικής κινάσης	Γονιδιακή ενίσχυση	Καρκίνος μαστού και καρκίνος στομάχου
BCR::ABL1	Χιμαιρική τυροσινική κινάση	Χρωμοσωμική αναδιάταξη	Χρόνια μυελογενής λευχαιμία

1.2.2 Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμβάλλουν στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης και διαίρεσης, καθώς και στη διατήρηση σημαντικών μηχανισμών κυτταρικής ομοιόστασης. Σε αντίθεση με τα ογκογονίδια, των οποίων η ενεργοποίηση προάγει την καρκινογένεση, η συμμετοχή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων στην ανάπτυξη του καρκίνου συνδέεται, κυρίως, με την απώλεια ή τη μείωση της λειτουργίας τους. Η αδρανοποίησή τους μπορεί, επομένως, να διαταράξει τους φυσιολογικούς μηχανισμούς ελέγχου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και να ευνοήσει την ανάπτυξη του κακοήθους φαινοτύπου [14], [16].

Η απώλεια της ογκοκατασταλτικής λειτουργίας μπορεί να προκύψει μέσω διαφορετικών γενετικών και επιγενετικών μηχανισμών, όπως μεταλλάξεις, ελλείψεις γονιδιακών περιοχών και επιγενετικές μεταβολές. Σε πολλά κλασικά ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως το RB1, η πλήρης απώλεια της λειτουργίας συνδέεται με αδρανοποίηση και των δύο αλληλομόρφων, σύμφωνα με το μοντέλο των «δύο χτυπημάτων» (two-hit hypothesis). Ωστόσο, το μοντέλο αυτό δεν εφαρμόζεται με τον ίδιο τρόπο σε όλα τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις η μεταβολή ενός μόνο αλληλομόρφου μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της ογκοκατασταλτικής δραστηριότητας [16].

Χαρακτηριστικά παραδείγματα ογκοκατασταλτικών γονιδίων αποτελούν τα TP53, RB1 και PTEN. Το TP53 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53, η οποία συμμετέχει στην απόκριση σε βλάβες του DNA, στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και στην ενεργοποίηση του κυτταρικού θανάτου. Το RB1 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (pRb), η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της προόδου του κυτταρικού κύκλου. Αντίστοιχα, το PTEN δρα ως ογκοκατασταλτικός ρυθμιστής της ενδοκυττάριας σηματοδότησης και η απώλεια της λειτουργίας του μπορεί να ευνοήσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση [16].

1.2.3 Γονίδια επιδιόρθωσης του DNA και μηχανισμοί

Το DNA υφίσταται διαρκώς βλάβες από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, οι οποίες, εάν δεν αποκατασταθούν, μπορούν να οδηγήσουν στη συσσώρευση μεταλλάξεων και στην αποσταθεροποίηση του γονιδιώματος. Για τη διατήρηση της γονιδιωματικής ακεραιότητας, τα κύτταρα διαθέτουν εξειδικευμένους μηχανισμούς επιδιόρθωσης, οι οποίοι ενεργοποιούνται ανάλογα με το είδος της βλάβης. Οι κυριότεροι περιλαμβάνουν την επιδιόρθωση μέσω εκτομής βάσεων (base excision repair, BER), την επιδιόρθωση μέσω εκτομής νουκλεοτιδίων (nucleotide excision repair, NER), την επιδιόρθωση λανθασμένων ζευγών βάσεων (mismatch repair, MMR), καθώς και τον ομόλογο ανασυνδυασμό (homologous recombination) και τη μη ομόλογη σύνδεση άκρων (non-homologous end joining, NHEJ), που αποτελούν βασικούς μηχανισμούς αποκατάστασης των θραύσεων διπλής έλικας του DNA [17].

Οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης αποτελούν μέρος ενός ευρύτερου δικτύου απόκρισης στη βλάβη του DNA (DNA damage response, DDR), το οποίο συντονίζει την αναγνώριση και την επιδιόρθωση των βλαβών με τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Σημαντικό ρόλο στις διεργασίες αυτές διαδραματίζουν πρωτεΐνες, όπως οι ATM και ATR, καθώς και οι BRCA1 και BRCA2, οι οποίες συμμετέχουν στη διατήρηση της γονιδιωματικής ακεραιότητας και, ειδικότερα, στην επιδιόρθωση των θραύσεων διπλής έλικας μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού. Διαταραχές των μηχανισμών απόκρισης και επιδιόρθωσης του DNA μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένη γονιδιωματική αστάθεια και συσσώρευση γενετικών αλλοιώσεων, συμβάλλοντας στην καρκινογένεση [18].

1.2.4 Επιγενετικοί μηχανισμοί και ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση χωρίς να μεταβάλλουν την αλληλουχία του DNA και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία όσο και στην καρκινογένεση. Οι κυριότεροι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών και την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Στα καρκινικά κύτταρα παρατηρούνται χαρακτηριστικές διαταραχές των επιγενετικών προτύπων, όπως υπερμεθυλίωση υποκινητών που μπορεί να οδηγήσει σε μεταγραφική καταστολή ογκοκατασταλτικών γονιδίων, καθώς και γενικευμένη υπομεθυλίωση του DNA, η οποία έχει συσχετιστεί με γονιδιωματική αστάθεια. Παράλληλα, μεταβολές στην ακετυλίωση και τη μεθυλίωση των ιστονών επηρεάζουν τη δομή της χρωματίνης και, κατά συνέπεια, την προσβασιμότητα του DNA στους μεταγραφικούς μηχανισμούς [19].

Στην επιγενετική και μετα-μεταγραφική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης συμμετέχουν, επίσης, μη κωδικά RNA, μεταξύ των οποίων τα microRNAs (miRNAs) και τα μακρά μη κωδικά RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs). Η απορρύθμιση των μηχανισμών αυτών μπορεί να μεταβάλει την έκφραση γονιδίων που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και άλλες διεργασίες που σχετίζονται με την καρκινική εξέλιξη. Ιδιαίτερα, τα miRNAs μπορούν να ρυθμίζουν μετα-μεταγραφικά τη γονιδιακή έκφραση μέσω αλληλεπίδρασης με μόρια αγγελιαφόρου RNA (mRNA), επηρεάζοντας τη σταθερότητα και τη μετάφρασή τους. Η διαταραχή της έκφρασης των miRNAs έχει συσχετιστεί με την καρκινογένεση, καθώς διαφορετικά miRNAs μπορούν να εμφανίζουν ογκογονική ή ογκοκατασταλτική δράση [20].

1.3 Παράγοντες κινδύνου για την καρκινογένεση

Η ανάπτυξη του καρκίνου αποτελεί πολυπαραγοντική διαδικασία, στην οποία αλληλεπιδρούν γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, καθώς και παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής. Ορισμένοι από αυτούς, όπως η κληρονομική γενετική προδιάθεση, δεν είναι τροποποιήσιμοι, ενώ άλλοι σχετίζονται με περιβαλλοντικές εκθέσεις, λοιμώδεις παράγοντες και τον τρόπο ζωής. Η σχετική συμβολή κάθε παράγοντα διαφέρει μεταξύ των επιμέρους τύπων καρκίνου, ενώ η αλληλεπίδραση

γενετικής προδιάθεσης και εξωγενών εκθέσεων μπορεί να επηρεάσει περαιτέρω τον ατομικό κίνδυνο καρκινογένεσης [21].

1.3.1 Γενετικοί και κληρονομικοί παράγοντες

Η γενετική προδιάθεση αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ορισμένων μορφών καρκίνου. Κληρονομούμενες παθογόνες παραλλαγές στη βλαστική σειρά μπορούν να επηρεάσουν γονίδια που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA, στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και σε άλλους μηχανισμούς διατήρησης της κυτταρικής ομοιόστασης, αυξάνοντας την πιθανότητα κακοήθους εξαλλαγής. Η παρουσία μιας τέτοιας παραλλαγής δεν συνεπάγεται απαραίτητα την ανάπτυξη καρκίνου, καθώς ο κίνδυνος εξαρτάται, μεταξύ άλλων, από τη διεισδυτικότητα της συγκεκριμένης γενετικής αλλοίωσης και την αλληλεπίδρασή της με άλλους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες [22].

Χαρακτηριστικά παραδείγματα γονιδίων που σχετίζονται με κληρονομική προδιάθεση στον καρκίνο είναι τα BRCA1 και BRCA2, των οποίων οι παθογόνες παραλλαγές αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών. Αντίστοιχα, παθογόνες παραλλαγές του APC σχετίζονται με την οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση, του TP53 με το σύνδρομο Li-Fraumeni και των γονιδίων MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2 με το σύνδρομο Lynch. Τα κληρονομικά αυτά σύνδρομα χαρακτηρίζονται από αυξημένη προδιάθεση για την ανάπτυξη συγκεκριμένων μορφών καρκίνου [22].

1.3.2 Περιβαλλοντικοί και λοιμώδεις παράγοντες

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες αποτελούν σημαντική κατηγορία εξωγενών παραγόντων που μπορούν να επηρεάσουν τον κίνδυνο καρκινογένεσης. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η έκθεση σε χημικές καρκινογόνες ουσίες και περιβαλλοντικούς ρύπους, καθώς και σε φυσικούς παράγοντες, όπως η υπεριώδης και η ιοντίζουσα ακτινοβολία. Η επίδραση των περιβαλλοντικών εκθέσεων στην ανάπτυξη καρκίνου εξαρτάται από παράγοντες όπως το είδος, η διάρκεια και η ένταση της έκθεσης, αλλά και από την αλληλεπίδρασή τους με ενδογενείς παράγοντες και την ατομική γενετική προδιάθεση [21].

Στην καρκινογένεση μπορούν, επίσης, να συμβάλουν ορισμένοι λοιμώδεις παράγοντες, μεταξύ των οποίων ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (human

papillomavirus, HPV), οι ιοί της ηπατίτιδας B και C (HBV και HCV), ο ιός Epstein–Barr (EBV) και το βακτήριο *Helicobacter pylori*. Οι λοιμώδεις αυτοί παράγοντες μπορούν να προάγουν την καρκινογένεση μέσω διαφορετικών μηχανισμών, όπως η πρόκληση χρόνιας φλεγμονής, η άμεση επίδραση στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η διαταραχή της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή [23].

1.3.3 Παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής

Ορισμένοι παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής μπορούν να επηρεάσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου και, σε αντίθεση με τους κληρονομικούς παράγοντες, είναι σε μεγάλο βαθμό τροποποιήσιμοι. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ, οι διατροφικές συνήθειες, η μειωμένη σωματική δραστηριότητα και η παχυσαρκία. Η συμβολή των παραγόντων αυτών στην καρκινογένεση δεν είναι ίδια για όλους τους τύπους καρκίνου, αλλά εξαρτάται από το είδος και τον βαθμό της έκθεσης, καθώς και από την αλληλεπίδρασή τους με άλλους ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες [21].

1.4 Ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου

Η ανάπτυξη του καρκίνου αποτελεί δυναμική και πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία τα κύτταρα αποκτούν σταδιακά μεταβολές που ευνοούν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και την εξέλιξή τους. Η διαδικασία αυτή συνοδεύεται από κλωνική επιλογή και ανάπτυξη ενδοογκικής ετερογένειας, ενώ επηρεάζεται σημαντικά από τις αλληλεπιδράσεις των καρκινικών κυττάρων με το μικροπεριβάλλον του όγκου. Η περαιτέρω εξέλιξη της νόσου μπορεί να οδηγήσει σε τοπική διήθηση και μετάσταση.

1.4.1 Πολυσταδιακή καρκινογένεση

Η καρκινογένεση αποτελεί μια πολυσταδιακή και δυναμική διαδικασία, κατά την οποία η σταδιακή συσσώρευση γενετικών και επιγενετικών μεταβολών συμβάλλει στην προοδευτική απόκτηση χαρακτηριστικών του κακοήθους φαινοτύπου. Κύτταρα που αποκτούν μεταβολές οι οποίες τους προσδίδουν πλεονέκτημα ανάπτυξης ή επιβίωσης μπορούν να επιλέγονται και να επεκτείνονται κλωνικά, ενώ η εμφάνιση πρόσθετων αλλοιώσεων οδηγεί στη δημιουργία νέων κυτταρικών υποπληθυσμών. Η εξέλιξη του όγκου, ωστόσο, δεν ακολουθεί απαραίτητα μία ενιαία και γραμμική πορεία, καθώς διαφορετικοί γενετικοί και μη γενετικοί μηχανισμοί μπορούν να δρουν παράλληλα ή σε διαφορετικά στάδια της νόσου [24].

1.4.2 Κλωνική εξέλιξη και ενδοογκική ετερογένεια

Η κλωνική εξέλιξη των όγκων βασίζεται στη συνεχή εμφάνιση και επιλογή κυτταρικών υποκλώνων με διαφορετικά γενετικά, επιγενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Κατά την ανάπτυξη του όγκου, ορισμένοι υποκλώνοι αποκτούν χαρακτηριστικά που τους προσδίδουν πλεονέκτημα επιβίωσης ή πολλαπλασιασμού και, υπό την επίδραση επιλεκτικών πιέσεων του μικροπεριβάλλοντος ή της θεραπείας, μπορούν να επικρατήσουν έναντι άλλων κυτταρικών πληθυσμών. Η συνύπαρξη διαφορετικών υποκλώνων στον ίδιο όγκο δημιουργεί την ενδοογκική ετερογένεια, η οποία μπορεί να μεταβάλλεται τόσο χωρικά όσο και χρονικά κατά την εξέλιξη της νόσου. Η ετερογένεια αυτή έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία, καθώς διαφορετικοί υποκλώνοι μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετική ευαισθησία στη θεραπεία, επιτρέποντας την επιλογή ανθεκτικών πληθυσμών και συμβάλλοντας στην υποτροπή και την εξέλιξη της νόσου [24], [25].

1.4.3 Μικροπεριβάλλον του όγκου

Το μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελεί ένα σύνθετο και δυναμικό οικοσύστημα, το οποίο περιλαμβάνει ποικίλα κυτταρικά και μη κυτταρικά συστατικά που αλληλεπιδρούν με τα καρκινικά κύτταρα. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη και τη μεταστατική συμπεριφορά του όγκου, ενώ παράγοντες, όπως η υποξία, η ανοσοδιαφυγή και οι μεταβολές της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (extracellular matrix, ECM), μπορούν να διαμορφώσουν ένα περιβάλλον που ευνοεί την καρκινική εξέλιξη. Παράλληλα, η σύνθεση και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του μικροπεριβάλλοντος μπορούν να επηρεάσουν τη θεραπευτική ανταπόκριση και να συμβάλουν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στις αντικαρκινικές θεραπείες [11].

1.4.4 Διήθηση και μετάσταση

Η μεταστατική διασπορά αποτελεί πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να διηθούν τους γειτονικούς ιστούς και να απομακρύνονται από τον πρωτοπαθή όγκο. Ακολουθεί η είσοδός τους στην αιματική ή λεμφική κυκλοφορία (ενδαγγείωση), η επιβίωσή τους κατά τη μεταφορά και, στη συνέχεια, η έξοδός τους από τα αγγεία (εξαγγείωση) σε απομακρυσμένους ιστούς. Τα κύτταρα που επιβιώνουν στο νέο μικροπεριβάλλον μπορούν να εγκατασταθούν και να

πολλαπλασιαστούν, οδηγώντας τελικά στον σχηματισμό μεταστατικών εστιών. Η επιτυχής ολοκλήρωση της μεταστατικής ακολουθίας εξαρτάται τόσο από ιδιότητες των ίδιων των καρκινικών κυττάρων όσο και από τις αλληλεπιδράσεις τους με το μικροπεριβάλλον του όγκου και των απομακρυσμένων ιστών [9], [10].

Κεφάλαιο 2^ο: Καρκίνος των ωοθηκών

2.1 Εισαγωγή

Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί μία από τις σημαντικότερες κακοήθειες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Πρόκειται για μια ετερογενή νόσο, καθώς περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους όγκων με ιδιαίτερα ιστολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά. Η νόσος συχνά διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο, καθώς τα συμπτώματα στα αρχικά στάδια μπορεί να είναι ήπια και μη ειδικά, ενώ δεν υπάρχει αποτελεσματική μέθοδος προσυμπτωματικού ελέγχου για τον γενικό πληθυσμό. Για τον λόγο αυτό, ο καρκίνος των ωοθηκών εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική αιτία θνησιμότητας από γυναικολογικό καρκίνο. Η εμφάνιση υποτροπής και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στη θεραπεία εξακολουθούν να αποτελούν σημαντικές προκλήσεις στην αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών [26].

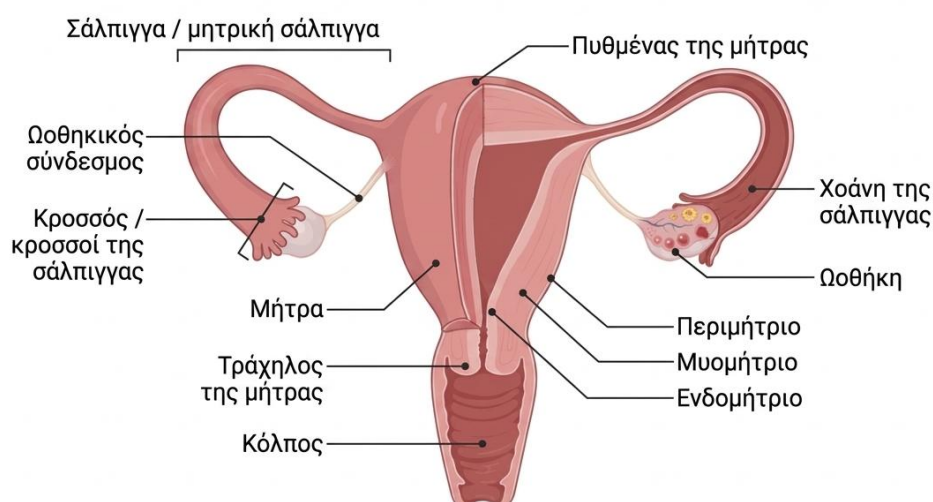
Ο καρκίνος των ωοθηκών περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους και ιστολογικούς υποτύπους, οι οποίοι παρουσιάζουν ιδιαίτερα μορφολογικά, μοριακά και κλινικά χαρακτηριστικά. Οι κακοήθεις όγκοι των ωοθηκών διακρίνονται σε επιθηλιακούς όγκους, όγκους γεννητικών κυττάρων και όγκους γεννητικής ταινίας και στρώματος. Οι επιθηλιακοί καρκίνοι αποτελούν τη συχνότερη κατηγορία και περιλαμβάνουν πέντε κύριους ιστολογικούς υποτύπους: το ορώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού (high-grade serous ovarian carcinoma, HGSOC), το ορώδες καρκίνωμα χαμηλού βαθμού (low-grade serous ovarian carcinoma, LGSOC), το ενδομητριοειδές, το διανογοκυτταρικό και το βλεννώδες καρκίνωμα. Παράλληλα με τις συμβατικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, η καλύτερη κατανόηση της μοριακής βιολογίας της νόσου έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών, διευρύνοντας τις διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές [26].

Δεδομένου ότι τα επιθηλιακά καρκινώματα αποτελούν τη συχνότερη κατηγορία κακοήθων νεοπλασμάτων των ωοθηκών, η παρούσα εργασία εστιάζει, κυρίως, στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών και, ιδιαίτερα, στους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και εξέλιξή του.

2.2 Ανατομία και φυσιολογία των ωοθηκών

2.2.1 Ανατομία των ωοθηκών

Οι ωοθήκες αποτελούν τους γυναικείους γονάδες και είναι δύο ενδοπεριτοναϊκά όργανα που εντοπίζονται στην πύελο, εκατέρωθεν της μήτρας και σε στενή ανατομική σχέση με τις σάλπιγγες, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος Πηγή: Προσαρμογή από BioRender.

Βρίσκονται, συνήθως, στον ωοθηκικό βόθρο και η θέση τους διατηρείται μέσω συνδεσμικών δομών. Ο αναρτήρας σύνδεσμος της ωοθήκης συνδέει την ωοθήκη με το πλάγιο πυελικό τοίχωμα και περιέχει τα ωοθηκικά αγγεία, ενώ ο ίδιος σύνδεσμος της ωοθήκης τη συνδέει με τη μήτρα. Οι διαστάσεις των ωοθηκών μεταβάλλονται ανάλογα με την ηλικία και τη λειτουργική τους κατάσταση [27], [28].

Από ιστολογική άποψη, η ωοθήκη καλύπτεται εξωτερικά από μονόστιβο κυβοειδές επιθήλιο, κάτω από το οποίο βρίσκεται ο ινώδης λευκός χιτώνας (tunica albuginea). Το παρέγχυμα της ωοθήκης διακρίνεται σε δύο κύριες περιοχές, τον φλοιό και τον μυελό. Ο φλοιός αποτελεί την εξωτερικότερη περιοχή και περιλαμβάνει τα ωοθυλάκια σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. Ο μυελός βρίσκεται κεντρικότερα, αποτελείται, κυρίως, από χαλαρό συνδετικό ιστό και περιέχει τα μεγαλύτερα αιμοφόρα αγγεία της ωοθήκης [27], [28].

Η αιμάτωση των ωοθηκών προέρχεται, κυρίως, από τις ωοθηκικές αρτηρίες, οι οποίες εκφύονται από την κοιλιακή αορτή, με επιπλέον συμβολή κλάδων των μητριάων αρτηριών. Η φλεβική παροχέτευση παρουσιάζει ανατομική ασυμμετρία: η δεξιά ωοθηκική φλέβα εκβάλλει στην κάτω κοίλη φλέβα, ενώ η αριστερή στην

αριστερή νεφρική φλέβα. Η λεμφική παροχέτευση πραγματοποιείται, κυρίως, προς τους παραορτικούς λεμφαδένες, ακολουθώντας σε μεγάλο βαθμό την πορεία των ωοθηκικών αγγείων. Η νεύρωση των ωοθηκών προέρχεται, κυρίως, από το ωοθηκικό πλέγμα, με συμμετοχή του υπογαστρίου πλέγματος και περιλαμβάνει συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές ίνες που πορεύονται προς τις ωοθήκες κατά μήκος των ωοθηκικών αγγείων [27], [28].

2.2.2 Φυσιολογία των ωοθηκών

Οι ωοθήκες επιτελούν δύο βασικές λειτουργίες: την παραγωγή και ωρίμανση των γυναικείων γεννητικών κυττάρων και την έκκριση ορμονών που είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική λειτουργία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Η λειτουργία τους παρουσιάζει κυκλικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας και ρυθμίζεται από τον άξονα υποθάλαμος–υπόφυση–ωοθήκες. Η εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών (gonadotropin-releasing hormone, GnRH), η οποία εκκρίνεται από τον υποθάλαμο, διεγείρει την πρόσθια υπόφυση για την έκκριση της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (follicle-stimulating hormone, FSH) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης (luteinizing hormone, LH). Οι γοναδοτροπίνες αυτές δρουν στις ωοθήκες και συμμετέχουν στη ρύθμιση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων, της ωορρηξίας και της παραγωγής των ωοθηκικών ορμονών [29].

Κατά την ωοθυλακική φάση του ωοθηκικού κύκλου, η FSH και η LH προάγουν την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και την έκκριση οιστρογόνων. Από την ομάδα των ωοθυλακίων που αρχίζουν να αναπτύσσονται, συνήθως, ένα ωοθυλάκιο ωριμάζει πλήρως, ενώ τα υπόλοιπα υποστρέφουν. Καθώς το κυρίαρχο ωοθυλάκιο αναπτύσσεται, αυξάνεται η παραγωγή οιστρογόνων. Προς το μέσο του κύκλου, η απότομη αύξηση της έκκρισης της LH, γνωστή ως αιχμή της LH, αποτελεί βασικό παράγοντα για την πρόκληση της ωορρηξίας και την απελευθέρωση του ωοκυττάρου από το ώριμο ωοθυλάκιο [29].

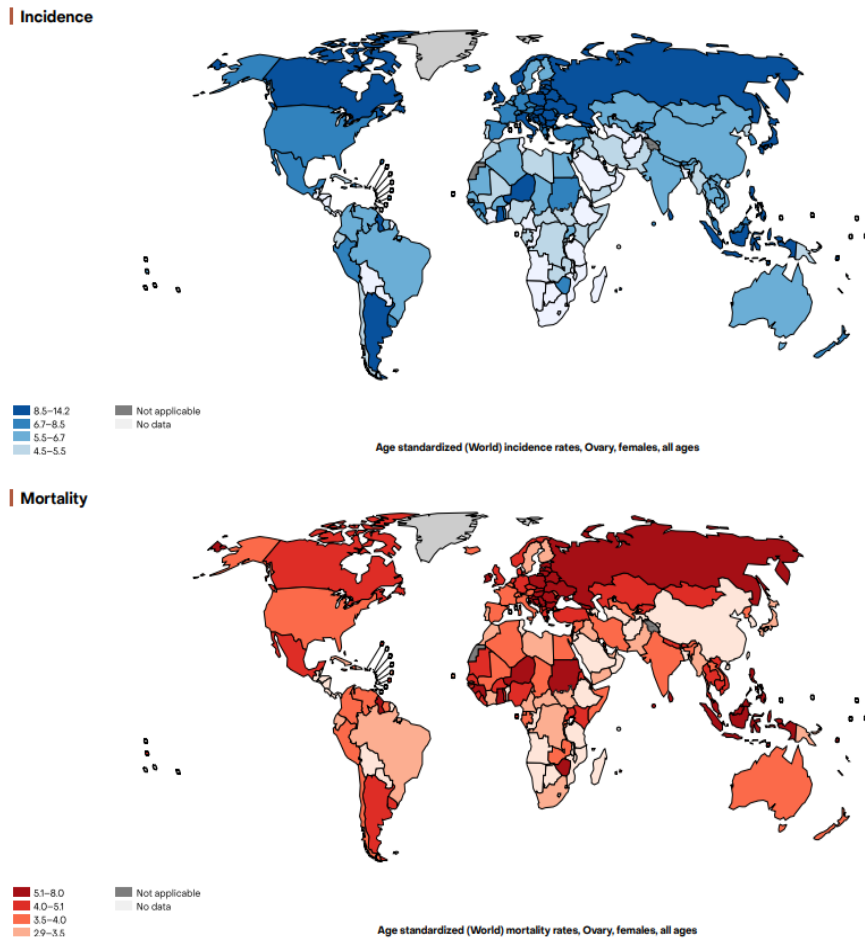
Μετά την ωορρηξία, τα εναπομείναντα κύτταρα του ωοθυλακίου υφίστανται ωχρινοποίηση και σχηματίζουν το ωχρό σωμάτιο. Το ωχρό σωμάτιο λειτουργεί ως προσωρινός ενδοκρινής σχηματισμός και εκκρίνει, κυρίως, προγεστερόνη και οιστρογόνα. Οι ορμόνες αυτές συμβάλλουν στην προετοιμασία του ενδομητρίου για πιθανή εμφύτευση και ασκούν αρνητική ανατροφοδότηση στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Εάν δεν πραγματοποιηθεί κύηση, το ωχρό σωμάτιο υποστρέφει, τα

επίπεδα των οιστρογόνων και της προγεστερόνης μειώνονται και ξεκινά ένας νέος ωοθηκικός κύκλος [29].

2.3 Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί μία από τις σημαντικότερες κακοήθειες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος και ευθύνεται για σημαντικό αριθμό θανάτων παγκοσμίως. Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις του Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) για το 2024, καταγράφηκαν παγκοσμίως περίπου 330.700 νέα περιστατικά και 203.850 θάνατοι από τη νόσο. Ο ηλικιακά προτυποποιημένος δείκτης επίπτωσης ήταν 6,5 ανά 100.000 γυναίκες, ενώ ο αντίστοιχος δείκτης θνησιμότητας ήταν 3,8 ανά 100.000 γυναίκες [30], [31].

Η επίπτωση του καρκίνου των ωοθηκών παρουσιάζει σημαντικές γεωγραφικές διαφοροποιήσεις. Περισσότερα από τα μισά νέα περιστατικά παγκοσμίως καταγράφονται στην Ασία, γεγονός που σχετίζεται και με το μεγάλο μέγεθος του πληθυσμού της, ενώ σημαντικό ποσοστό καταγράφεται και στην Ευρώπη. Ωστόσο, η σύγκριση των ηλικιακά προτυποποιημένων δεικτών δείχνει ότι η συχνότητα εμφάνισης της νόσου διαφέρει μεταξύ των επιμέρους γεωγραφικών περιοχών και πληθυσμών [30], [31], [32]. Η γεωγραφική κατανομή των ηλικιακά προτυποποιημένων δεικτών επίπτωσης και θνησιμότητας του καρκίνου των ωοθηκών παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4: Παγκόσμια κατανομή των ηλικιακά προτυποποιημένων δεικτών επίπτωσης (Α) και θνησιμότητας (Β) του καρκίνου των ωοθηκών ανά 100.000 γυναίκες. Πηγή: Global Cancer Observatory, International Agency for Research on Cancer (IARC), GLOBOCAN 2024 [31].

Η ηλικία αποτελεί, επίσης, σημαντικό δημογραφικό χαρακτηριστικό της νόσου. Η συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου των ωοθηκών αυξάνεται με την ηλικία και η νόσος εμφανίζεται συχνότερα σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας, ενώ είναι σχετικά σπάνια πριν από την ηλικία των 40 ετών. Επίσης, η συχνότητά του αυξάνεται μετά την εμμηνόπαυση [30], [32]. Οι διαφορές που παρατηρούνται ως προς την ηλικιακή και γεωγραφική κατανομή της νόσου αντανακλούν πιθανώς τη σύνθετη αλληλεπίδραση γενετικών, αναπαραγωγικών, ορμονικών, περιβαλλοντικών και άλλων παραγόντων [32]. Οι παράγοντες αυτοί εξετάζονται αναλυτικότερα στην επόμενη ενότητα.

2.4 Παράγοντες κινδύνου και προστατευτικοί παράγοντες

Η ανάπτυξη του καρκίνου των ωοθηκών επηρεάζεται από ποικίλους γενετικούς και κληρονομικούς, αναπαραγωγικούς και ορμονικούς παράγοντες, καθώς και από παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής και άλλες καταστάσεις. Ορισμένοι από

αυτούς έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, ενώ άλλοι φαίνεται να ασκούν προστατευτική επίδραση. Η επίδρασή τους μπορεί να διαφέρει μεταξύ των επιμέρους ιστολογικών υποτύπων, αντανακλώντας τη βιολογική ετερογένεια του καρκίνου των ωοθηκών [32].

2.4.1 Γενετικοί και κληρονομικοί παράγοντες

Η κληρονομική γενετική προδιάθεση αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου των ωοθηκών. Ιδιαίτερη σημασία έχουν οι παθογόνες παραλλαγές των γονιδίων BRCA1 και BRCA2, τα οποία συμμετέχουν στην επιδιόρθωση των διπλών θραύσεων του DNA μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού. Οι κληρονομούμενες παραλλαγές στα γονίδια αυτά σχετίζονται με το σύνδρομο κληρονομικού καρκίνου μαστού και ωοθηκών (hereditary breast and ovarian cancer, HBOC) και αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [33].

Εκτός από τα BRCA1 και BRCA2, αυξημένος κίνδυνος έχει συσχετισθεί με παθογόνες παραλλαγές και άλλων γονιδίων που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA, όπως τα RAD51C, RAD51D και BRIP1. Παράλληλα, ο καρκίνος των ωοθηκών περιλαμβάνεται στο φάσμα των κακοηθειών που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch, το οποίο οφείλεται σε παθογόνες παραλλαγές γονιδίων του συστήματος επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων του DNA (mismatch repair, MMR), κυρίως, των MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2 [33]. Η παρουσία οικογενειακού ιστορικού καρκίνου των ωοθηκών, ιδιαίτερα, σε συγγενείς πρώτου βαθμού αποτελεί, επίσης, ένδειξη αυξημένου κινδύνου και μπορεί να αντανakλά υποκείμενη κληρονομική προδιάθεση [32], [33].

2.4.2 Αναπαραγωγικοί και ορμονικοί παράγοντες

Οι αναπαραγωγικοί και ορμονικοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου των ωοθηκών. Η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών αποτελεί έναν από τους καλύτερα τεκμηριωμένους προστατευτικούς παράγοντες, καθώς έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου [34]. Αντίθετα, η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης μετά την εμμηνόπαυση έχει συσχετιστεί με αύξηση του κινδύνου, με την ισχύ της συσχέτισης να επηρεάζεται από το είδος και τη διάρκεια της θεραπείας [32], [34].

Η αναπαραγωγική ιστορία της γυναίκας φαίνεται, επίσης, να επηρεάζει τον κίνδυνο. Παράγοντες που περιορίζουν τον συνολικό αριθμό των ωορρηξιών κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής, όπως η εγκυμοσύνη και ο θηλασμός, έχουν συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου των ωοθηκών. Αντίθετα, η ατεκνία έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο. Η επίδραση των αναπαραγωγικών παραγόντων στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου φαίνεται να διαφοροποιείται μεταξύ των επιμέρους ιστολογικών τύπων του καρκίνου των ωοθηκών [32], [34].

2.4.3 Λοιποί παράγοντες κινδύνου

Εκτός από τους γενετικούς, αναπαραγωγικούς και ορμονικούς παράγοντες, ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου των ωοθηκών έχει συσχετιστεί και με άλλους παράγοντες. Η παχυσαρκία αποτελεί έναν από τους καλύτερα τεκμηριωμένους μη γενετικούς παράγοντες κινδύνου, καθώς ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος έχει συσχετιστεί με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου [34]. Επίσης, η ενδομητρίωση έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου των ωοθηκών, αν και η σχέση αυτή διαφοροποιείται μεταξύ των επιμέρους ιστολογικών υποτύπων [32], [34].

Το κάπνισμα έχει, επίσης, μελετηθεί ως πιθανός παράγοντας κινδύνου, ωστόσο, η συσχέτισή του με την εμφάνιση καρκίνου των ωοθηκών φαίνεται να διαφοροποιείται ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο της νόσου. Συνολικά, η ετερογένεια των παραγόντων που σχετίζονται με τον καρκίνο των ωοθηκών υπογραμμίζει την πολυπαραγοντική φύση της νόσου και τη σημασία της συνεκτίμησης τόσο της γενετικής προδιάθεσης όσο και των μη γενετικών παραγόντων [32],[34].

2.5 Ιστοπαθολογική και μοριακή ταξινόμηση

Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί ετερογενή ομάδα νεοπλασμάτων, τα οποία διαφέρουν ως προς την ιστολογική τους μορφολογία, τα μοριακά χαρακτηριστικά και την κλινική τους συμπεριφορά. Η ιστοπαθολογική ταξινόμηση βασίζεται στην κυτταρική προέλευση και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του νεοπλάσματος, ενώ η μοριακή διερεύνηση επιτρέπει την αναγνώριση χαρακτηριστικών γενετικών και μοριακών αλλοιώσεων. Ο συνδυασμός των δύο προσεγγίσεων συμβάλλει στην ακριβέστερη διάκριση των επιμέρους τύπων καρκίνου των ωοθηκών, οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά, πρόγνωση και ανταπόκριση στη θεραπεία [26], [35].

2.5.1 Επιθηλιακοί όγκοι

Οι επιθηλιακοί καρκίνοι αποτελούν τη συχνότερη κατηγορία κακοήθων νεοπλασμάτων των ωοθηκών και χαρακτηρίζονται από σημαντική ιστολογική και μοριακή ετερογένεια [26]. Δεν αποτελούν μία ενιαία νοσολογική οντότητα, αλλά περιλαμβάνουν διακριτούς ιστολογικούς τύπους με διαφορετικά μορφολογικά, μοριακά και κλινικά χαρακτηριστικά. Οι πέντε κύριοι ιστολογικοί τύποι, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι το ορώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού (high-grade serous ovarian carcinoma, HGSOC), το ορώδες καρκίνωμα χαμηλού βαθμού (low-grade serous ovarian carcinoma, LGSOC), το ενδομητριοειδές καρκίνωμα, το διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα και το βλεννώδες καρκίνωμα. Η διάκριση μεταξύ των επιμέρους τύπων βασίζεται, κυρίως, στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του όγκου και συμπληρώνεται, όπου απαιτείται, από ανοσοϊστοχημικά και μοριακά ευρήματα [26], [35], [36].

Το **ορώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού (HGSOC)** αποτελεί τον συχνότερο ιστολογικό τύπο του επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. Ιστοπαθολογικά χαρακτηρίζεται από έντονη πυρηνική ατυπία και υψηλή μιτωτική δραστηριότητα. Σε μοριακό επίπεδο, χαρακτηριστικό γνώρισμα αποτελεί η πολύ υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων του TP53, ενώ σε σημαντικό ποσοστό των περιπτώσεων παρατηρούνται διαταραχές της επιδιόρθωσης του DNA μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού, στις οποίες περιλαμβάνονται αλλοιώσεις των BRCA1 και BRCA2 [35].

Αντίθετα, το **ορώδες καρκίνωμα χαμηλού βαθμού (LGSOC)** αποτελεί διακριτή ιστολογική και μοριακή οντότητα από το HGSOC. Χαρακτηρίζεται ιστοπαθολογικά από μικρότερου βαθμού πυρηνική ατυπία και χαμηλότερη μιτωτική δραστηριότητα. Σε μοριακό επίπεδο παρατηρούνται συχνά αλλοιώσεις της σηματοδοτικής οδού MAPK, ιδιαίτερα, μεταλλάξεις των KRAS και BRAF, ενώ οι μεταλλάξεις του TP53 δεν αποτελούν χαρακτηριστικό εύρημα [35].

Το **ενδομητριοειδές καρκίνωμα** παρουσιάζει μορφολογικά χαρακτηριστικά που προσομοιάζουν με εκείνα του ενδομητριοειδούς καρκινώματος του ενδομητρίου. Σε μοριακό επίπεδο αποτελεί ετερογενή κατηγορία και χαρακτηρίζεται από αλλοιώσεις της οδού WNT/β-κατενίνης, καθώς και από μεταλλάξεις γονιδίων όπως τα CTNNB1 και PTEN. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται, επίσης, διαταραχές στο σύστημα επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων του DNA [35].

Το **διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα** χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη ιστοπαθολογική μορφολογία, με κύτταρα που συχνά εμφανίζουν διαυγές ή ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Σε μοριακό επίπεδο, χαρακτηριστικές είναι οι αλλοιώσεις του ARID1A και της σηματοδοτικής οδού PI3K/AKT, συμπεριλαμβανομένων μεταλλάξεων του PIK3CA [35].

Τέλος, το **βλεννώδες καρκίνωμα** αποτελεί σχετικά σπάνιο πρωτοπαθές επιθηλιακό καρκίνωμα των ωοθηκών και χαρακτηρίζεται ιστοπαθολογικά από βλεννώδη διαφοροποίηση των νεοπλασματικών κυττάρων. Σε μοριακό επίπεδο, συχνές είναι οι αλλοιώσεις του KRAS και η απώλεια του CDKN2A, ενώ έχουν, επίσης, περιγραφεί μεταβολές του TP53 και ενίσχυση του ERBB2 (HER2) σε υποσύνολο των περιπτώσεων. Ιδιαίτερη σημασία έχει η διάκριση του πρωτοπαθούς βλεννώδους καρκινώματος της ωοθήκης από μεταστατικά βλεννώδη καρκινώματα άλλης πρωτοπαθούς εντόπισης [35]. Τα κύρια ιστοπαθολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά των επιμέρους τύπων επιθηλιακού καρκινώματος των ωοθηκών συνοψίζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Κύρια ιστοπαθολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά των επιθηλιακών καρκινωμάτων των ωοθηκών Πηγή: Προσαρμογή από De Leo et al., 2021 [35].		
Ιστολογικός τύπος	Κύρια ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά	Χαρακτηριστικές μοριακές αλλοιώσεις
HGSOC	Έντονη πυρηνική ατυπία, υψηλή μιτωτική δραστηριότητα	TP53, BRCA1/2, HRD
LGSOC	Μικρότερου βαθμού πυρηνική ατυπία, χαμηλότερη μιτωτική δραστηριότητα	KRAS, BRAF, οδός MAPK
Ενδομητριοειδές	Ενδομητριοειδής μορφολογία	CTNNB1, PTEN, WNT/β-κατενίνη, MMR/MSI
Διαυγοκυτταρικό	Διαυγές/ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα	ARID1A, PIK3CA, οδός PI3K/AKT
Βλεννώδες	Βλεννώδης διαφοροποίηση	KRAS, CDKN2A, TP53, ενίσχυση ERBB2

2.5.2 Μη επιθηλιακοί όγκοι

Οι μη επιθηλιακοί κακοήθεις όγκοι των ωοθηκών είναι σημαντικά σπανιότεροι και περιλαμβάνουν, κυρίως, τους όγκους γεννητικών κυττάρων και τους όγκους γεννητικής

ταινίας και στρώματος. Οι όγκοι γεννητικών κυττάρων προέρχονται από κύτταρα της γεννητικής σειράς και εμφανίζονται συχνότερα σε νεότερες γυναίκες. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται, μεταξύ άλλων, το δυσγερίνωμα, ο όγκος λεκιθικού ασκού και το ανώριμο τεράτωμα [26].

Οι όγκοι γεννητικής ταινίας και στρώματος προέρχονται από κύτταρα της γεννητικής ταινίας και του στρώματος της ωοθήκης και περιλαμβάνουν νεοπλάσματα, όπως οι κοκκιοκυτταρικοί όγκοι και οι όγκοι Sertoli–Leydig. Οι μη επιθηλιακοί όγκοι διαφέρουν από τους επιθηλιακούς ως προς την ιστογένεση, την ηλικιακή κατανομή και τη βιολογική τους συμπεριφορά [26].

2.6 Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία του καρκίνου των ωοθηκών είναι σύνθετη και παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των επιμέρους ιστολογικών τύπων. Η παλαιότερη αντίληψη υποστήριζε ότι τα επιθηλιακά καρκινώματα προέρχονται, κυρίως, από το επιθήλιο της επιφάνειας της ωοθήκης. Σύμφωνα με τη θεωρία της συνεχούς ωορρηξίας, οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ρήξης και επιδιόρθωσης του ωοθητικού επιθηλίου κατά την ωορρηξία θεωρήθηκε ότι μπορούν να ευνοήσουν τη νεοπλασματική εξαλλαγή. Ωστόσο, η αδυναμία αναγνώρισης σαφών πρόδρομων βλαβών εντός της ωοθήκης, σε συνδυασμό με νεότερα παθολογοανατομικά και μοριακά δεδομένα, οδήγησαν σε σημαντική αναθεώρηση αυτής της αντίληψης [37], [38].

Σήμερα, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι σημαντικό ποσοστό των καρκινωμάτων που εκδηλώνονται στις ωοθήκες μπορεί να έχει εξωωθητική προέλευση. Ιδιαίτερα, το ορώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού (HGSOC), που αποτελεί τον συχνότερο ιστολογικό τύπο, θεωρείται ότι σε μεγάλο ποσοστό προέρχεται από το επιθήλιο του άπω τμήματος (κροσσωτού άκρου) της σάλπιγγας. Στο κροσσωτό άκρο της σάλπιγγας έχουν αναγνωριστεί πρόδρομες βλάβες, γνωστές ως ορώδες ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα της σάλπιγγας (serous tubal intraepithelial carcinoma - STIC), οι οποίες παρουσιάζουν κοινά μοριακά χαρακτηριστικά με το HGSOC. Αντίστοιχα, διαφορετικοί ιστολογικοί τύποι φαίνεται να ακολουθούν διαφορετικές οδούς προέλευσης: τα ενδομητριοειδή και διανογκυτταρικά καρκινώματα συνδέονται με ενδομητριοσικές βλάβες, ενώ το ορώδες καρκίνωμα χαμηλού βαθμού αναπτύσσεται σταδιακά μέσω ορώδων οριακών όγκων [37], [38].

Στο πλαίσιο της παθογένεσης των επιθηλιακών καρκινωμάτων των ωοθηκών έχει προταθεί η διάκρισή τους σε όγκους Τύπου I και Τύπου II, με βάση τις διαφορετικές οδούς ανάπτυξης και τα μοριακά τους χαρακτηριστικά. Οι όγκοι Τύπου I περιλαμβάνουν, κυρίως, το ορώδες καρκίνωμα χαμηλού βαθμού, το ενδομητριοειδές, το διανυγοκυτταρικό και το βλεννώδες καρκίνωμα και χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες μοριακές αλλοιώσεις που διαφοροποιούνται ανά ιστολογικό τύπο. Αντίθετα, στους όγκους Τύπου II κυριαρχεί το ορώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού, το οποίο χαρακτηρίζεται από έντονη γονιδιωματική αστάθεια και πολύ συχνές αλλοιώσεις του TP53. Η διάκριση αυτή αποτελεί χρήσιμο μοντέλο για την κατανόηση της διαφορετικής παθογένεσης των επιθηλιακών καρκινωμάτων, χωρίς ωστόσο να υποκαθιστά τη σύγχρονη ταξινόμησή τους σε διακριτούς ιστολογικούς τύπους [39].

Η νεοπλασματική εξέλιξη συνοδεύεται από συσσώρευση γενετικών και μοριακών αλλοιώσεων, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ των ιστολογικών τύπων και επηρεάζουν θεμελιώδεις κυτταρικές λειτουργίες. Το HGSOE χαρακτηρίζεται από έντονη γονιδιωματική αστάθεια και σχεδόν καθολική διαταραχή του TP53, ενώ συχνές είναι οι διαταραχές των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA—ιδιαίτερα του ομόλογου ανασυνδυασμού— στις οποίες συμμετέχουν, μεταξύ άλλων, τα γονίδια BRCA1 και BRCA2. Αντίθετα, στους υπόλοιπους ιστολογικούς τύπους παρατηρούνται διαφορετικά μοριακά πρότυπα, με τη συμμετοχή σηματοδοτικών οδών που ρυθρίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και την απόκριση σε βλάβες του DNA [37], [38].

Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της εξέλιξης του επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών είναι η τάση για ενδοπεριτοναϊκή διασπορά. Τα νεοπλασματικά κύτταρα μπορούν να αποσπαστούν από την πρωτοπαθή εστία και να μεταφερθούν μέσω του περιτοναϊκού υγρού σε διαφορετικές θέσεις της περιτοναϊκής κοιλότητας. Κατά τη διαδικασία αυτή μπορούν να επιβιώσουν ως μεμονωμένα κύτταρα ή να σχηματίσουν πολυκυτταρικά συσσωματώματα, γνωστά ως σφαιροειδή. Στη συνέχεια, προσκολλώνται στο μεσοθήλιο, διηθούν τους υποκείμενους ιστούς και εγκαθιστούν δευτερογενείς εστίες. Το επίπλυν αποτελεί ιδιαίτερα συχνή θέση μεταστατικής εγκατάστασης, καθώς το τοπικό του μικροπεριβάλλον υποστηρίζει ενεργά την επιβίωση και την ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων [37], [40].

Καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου διαδραματίζει, επίσης, το μικροπεριβάλλον του όγκου, το οποίο αποτελείται από νεοπλασματικά και ανοσολογικά κύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά και μεσοθηλιακά κύτταρα, λιποκύτταρα, στοιχεία της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και ποικίλους διαλυτούς παράγοντες. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των στοιχείων ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, την αγγειογένεση, την ανοσοδιαφυγή, τη διήθηση και τη μεταστατική διασπορά [37], [40].

Στην προχωρημένη νόσο, συχνή είναι και η παρουσία ασκίτη, ο οποίος αποτελεί χαρακτηριστικό στοιχείο του περιτοναϊκού μικροπεριβάλλοντος. Το ασκитικό υγρό περιέχει νεοπλασματικά και άλλα κυτταρικά στοιχεία, καθώς και βιοδραστικούς παράγοντες, δημιουργώντας ένα δυναμικό περιβάλλον που διευκολύνει τη μεταφορά και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας. Με τον τρόπο αυτό, η αλληλεπίδραση των καρκινικών κυττάρων με το περιτοναϊκό μικροπεριβάλλον συμβάλλει ουσιαστικά στην εξέλιξη και τη μεταστατική συμπεριφορά του καρκίνου των ωοθηκών [40].

2.7 Κλινική εικόνα και διάγνωση

2.7.1 Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα του καρκίνου των ωοθηκών χαρακτηρίζεται συχνά από μη ειδική συμπτωματολογία, ιδιαίτερα, στα αρχικά στάδια της νόσου. Τα συμπτώματα μπορεί να είναι ήπια και να αποδίδονται σε συχνότερες καλοήθειες καταστάσεις, γεγονός που μπορεί να καθυστερήσει τη διερεύνηση και τη διάγνωση. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, η συμπτωματολογία γίνεται, συνήθως, περισσότερο εμφανής και σχετίζεται με την αύξηση του μεγέθους του όγκου και την επέκτασή του στην περιτοναϊκή κοιλότητα [26], [41].

Στα συχνότερα συμπτώματα περιλαμβάνονται η κοιλιακή διάταση και το αίσθημα μετεωρισμού, το κοιλιακό ή πυελικό άλγος, ο πρώιμος κορεσμός και η μειωμένη πρόσληψη τροφής. Είναι, επίσης, δυνατό να εμφανιστούν διαταραχές της λειτουργίας του γαστρεντερικού και του ουροποιητικού συστήματος, όπως δυσκοιλιότητα και αυξημένη συχνότητα ούρησης. Σε περισσότερο προχωρημένη νόσο μπορεί να παρατηρηθούν αύξηση της περιμέτρου της κοιλίας λόγω ασκίτη, απώλεια σωματικού βάρους, κόπωση και δύσπνοια, ιδιαίτερα, όταν συνυπάρχει υπεζωκοτική συλλογή. Η απουσία ειδικών πρώιμων συμπτωμάτων αποτελεί έναν από τους

παράγοντες που δυσχεραίνουν την έγκαιρη αναγνώριση της νόσου, οδηγώντας στη διάγνωση της πλειονότητας των ασθενών σε προχωρημένα στάδια (III/IV). Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει την επιτακτική ανάγκη για την ανακάλυψη ευαίσθητων και ειδικών βιοδεικτών πρώιμης διάγνωσης [26].

2.7.2 Διαγνωστική προσέγγιση και βιοδείκτες

Η διαγνωστική διερεύνηση του καρκίνου των ωοθηκών βασίζεται στον συνδυασμό κλινικής αξιολόγησης, απεικονιστικών εξετάσεων και προσδιορισμού ορολογικών βιοδεικτών. Σε γυναίκες με συμπτώματα ή με εξαρτηματική μάζα ύποπτη για κακοήθεια, η αρχική αξιολόγηση περιλαμβάνει τη λήψη αναλυτικού ιστορικού και τη φυσική και γυναικολογική εξέταση. Η πυελική υπερηχογραφία, ιδιαίτερα, το διακολπικό υπερηχογράφημα, αποτελεί βασική απεικονιστική μέθοδο για την αξιολόγηση των ωοθηκών και των εξαρτηματικών μαζών. Επιτρέπει την εκτίμηση μορφολογικών χαρακτηριστικών, όπως το μέγεθος και η σύσταση της βλάβης, η παρουσία συμπαγών περιοχών ή θηλωδών προσεκβολών και η παρουσία ασκίτη [26], [40]. Για την περαιτέρω διερεύνηση ύποπτης νόσου και την εκτίμηση της έκτασής της χρησιμοποιείται, κυρίως, η αξονική τομογραφία (CT) θώρακος, κοιλίας και πυέλου, ενώ η μαγνητική τομογραφία (MRI) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε επιλεγμένες περιπτώσεις για τον καλύτερο χαρακτηρισμό αδιευκρίνιστων εξαρτηματικών μαζών [41].

Το καρκινικό αντιγόνο, CA-125 (cancer antigen 125), αποτελεί τον συχνότερα χρησιμοποιούμενο ορολογικό βιοδείκτη στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών και χρησιμοποιείται στο πλαίσιο της διαγνωστικής αξιολόγησης μιας ύποπτης εξαρτηματικής μάζας. Ωστόσο, η διαγνωστική του αξία παρουσιάζει σημαντικούς περιορισμούς. Τα επίπεδά του δεν είναι αυξημένα σε όλες τις ασθενείς, ιδιαίτερα, στα πρώιμα στάδια, ενώ αύξησή τους μπορεί να παρατηρηθεί και σε καλοήθεις γυναικολογικές και μη γυναικολογικές καταστάσεις. Κατά συνέπεια, ο CA-125 δεν αποτελεί ειδικό δείκτη του καρκίνου των ωοθηκών και δεν πρέπει να αξιολογείται μεμονωμένα για τη διάγνωση της νόσου [41], [42].

Ένας ακόμη βιοδείκτης που έχει μελετηθεί εκτενώς είναι η ανθρώπινη επιδιδυμική πρωτεΐνη 4 (human epididymis protein 4, HE4). Η HE4 μπορεί να συμβάλει στη διάκριση καλοήθων από κακοήθεις εξαρτηματικές μάζες και έχει αξιολογηθεί τόσο μεμονωμένα όσο και σε συνδυασμό με τον CA-125. Ο συνδυασμός

των δύο δεικτών χρησιμοποιείται και στον αλγόριθμο εκτίμησης του κινδύνου κακοήθειας των ωοθηκών (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm, ROMA), ο οποίος συνεκτιμά τις συγκεντρώσεις CA-125 και HE4 μαζί με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση της γυναίκας για την εκτίμηση του κινδύνου κακοήθειας. Παρά τη χρησιμότητα αυτών των προσεγγίσεων στην αξιολόγηση γυναικών με εξαρτηματική μάζα, κανένας από τους συγκεκριμένους βιοδείκτες δεν διαθέτει από μόνος του επαρκή διαγνωστική ακρίβεια για την αξιόπιστη ανίχνευση πρόιμης νόσου [42].

Η οριστική διάγνωση βασίζεται στην ιστοπαθολογική εξέταση του νεοπλασματικού ιστού, η οποία επιτρέπει τον καθορισμό του ιστολογικού τύπου και συμπληρώνεται, όπου απαιτείται, από ανοσοϊστοχημικό και μοριακό έλεγχο [26], [41]. Παρά τη σημαντική πρόοδο στις απεικονιστικές μεθόδους και στους βιοδείκτες, δεν υπάρχει σήμερα αποτελεσματική στρατηγική πληθυσμιακού προσυμπτωματικού ελέγχου για γυναίκες μέσου κινδύνου, γεγονός που εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική πρόκληση για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου των ωοθηκών. Η ανάγκη αυτή έχει στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στην αναζήτηση νέων, ελάχιστα επεμβατικών μοριακών βιοδεικτών με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, μεταξύ των οποίων ξεχωρίζουν τα κυκλοφορούντα miRNAs (c-miRNAs) [41], [42].

2.8 Σταδιοποίηση FIGO

Η σταδιοποίηση του καρκίνου των ωοθηκών πραγματοποιείται σύμφωνα με το σύστημα της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γυναικολογίας και Μαιευτικής (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO). Η αναθεώρηση του 2014 ενσωμάτωσε σε ένα κοινό σύστημα σταδιοποίησης τους καρκίνους των ωοθηκών, των σαλπίγγων και του περιτοναίου. Η σταδιοποίηση βασίζεται, κυρίως, στα ευρήματα της χειρουργικής διερεύνησης και στην έκταση της νόσου και αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την εκτίμηση της πρόγνωσης και τον σχεδιασμό της θεραπευτικής αντιμετώπισης [41], [43].

Σύμφωνα με το σύστημα FIGO, η νόσος ταξινομείται σε τέσσερα κύρια στάδια (I–IV). Στο **στάδιο I** ο όγκος περιορίζεται στις ωοθήκες ή στις σάλπιγγες, ενώ στο **στάδιο II** έχει επεκταθεί εντός της πυέλου. Το **στάδιο III** χαρακτηρίζεται από εξάπλωση εκτός της πυέλου στο περιτόναιο ή/και προσβολή των οπισθοπεριτοναϊκών λεμφαδένων. Τέλος, το **στάδιο IV** αντιστοιχεί σε απομακρυσμένες μεταστάσεις,

εξαιρουμένων των περιτοναϊκών μεταστάσεων. [41], [43]. Η αναλυτικότερη ταξινόμηση των σταδίων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Σταδιοποίηση του καρκίνου των ωοθηκών σύμφωνα με το σύστημα FIGO. Πηγή: Προσαρμογή από Renz et al., 2025 [43].	
Στάδιο FIGO	Έκταση της νόσου
I	Ο όγκος περιορίζεται στις ωοθήκες ή τις σάλπιγγες. IA: προσβολή μία ωοθήκη ή σάλπιγγα, ακέραιη κάψα και χωρίς κακοήθη κύτταρα σε ασκίτη/περιτοναϊκές εκπλύσεις. IB: προσβολή και των δύο ωοθήκες ή σάλπιγγες με αντίστοιχα χαρακτηριστικά. IC: περιορισμένη νόσος με διεγχειρητική ρήξη (IC1), προεγχειρητική ρήξη ή όγκο στην επιφάνεια (IC2) ή κακοήθη κύτταρα σε ασκίτη/εκπλύσεις (IC3).
II	Επέκταση εντός της πύελου. IIA: επέκταση ή εμφυτεύσεις στη μήτρα ή/και στις σάλπιγγες. IIB: επέκταση σε άλλους ενδοπυελικούς ιστούς.
III	Εξωπυελική περιτοναϊκή διασπορά ή/και μετάσταση σε οπισθοπεριτοναϊκούς λεμφαδένες. IIIA1: Μόνο οπισθοπεριτοναϊκοί λεμφαδένες, χωρίς εξωπυελική περιτοναϊκή νόσο. IIIA2: Μικροσκοπική εξωπυελική περιτοναϊκή μετάσταση, είτε υπάρχουν θετικοί λεμφαδένες είτε όχι. IIIB: μακροσκοπική περιτοναϊκή μετάσταση ≤ 2 cm. IIIC: μακροσκοπική περιτοναϊκή μετάσταση > 2 cm.
IV	Απομακρυσμένες μεταστάσεις. IVA: υπεζωκοτική συλλογή με θετική κυτταρολογική εξέταση. IVB: παρεγχυματικές ή άλλες εξωκοιλιακές μεταστάσεις.

2.9 Πρόγνωση και προγνωστικοί παράγοντες

Η πρόγνωση του καρκίνου των ωοθηκών επηρεάζεται από πολλούς κλινικούς, ιστοπαθολογικούς και μοριακούς παράγοντες. Το στάδιο της νόσου κατά τη διάγνωση αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους προγνωστικούς παράγοντες. Η νόσος που διαγιγνώσκεται σε πρώιμο στάδιο και περιορίζεται στις ωοθήκες συνδέεται γενικά με καλύτερη πρόγνωση σε σύγκριση με την προχωρημένη νόσο, στην οποία έχει ήδη σημειωθεί εξωπυελική ή απομακρυσμένη διασπορά. Η σημασία του σταδίου είναι ιδιαίτερα μεγάλη στον καρκίνο των ωοθηκών, δεδομένου ότι μεγάλο ποσοστό των ασθενών διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο [41], [43].

Σημαντική προγνωστική αξία έχουν, επίσης, ο ιστολογικός τύπος και τα μοριακά χαρακτηριστικά του όγκου, καθώς οι διαφορετικοί ιστολογικοί τύποι παρουσιάζουν διακριτή βιολογική συμπεριφορά και διαφορετική ανταπόκριση στη

θεραπεία. Ιδιαίτερη κλινική σημασία έχει η κατάσταση των γονιδίων BRCA1/2 και η παρουσία ανεπάρκειας ομόλογου ανασυνδυασμού (homologous recombination deficiency, HRD), οι οποίες παρέχουν προγνωστικές πληροφορίες και, παράλληλα, μπορούν να λειτουργήσουν ως προβλεπτικοί βιοδείκτες για την ανταπόκριση σε συγκεκριμένες στοχευμένες θεραπείες [41].

Στην προχωρημένη νόσο, καθοριστικός παράγοντας για την έκβαση είναι η έκταση της υπολειπόμενης νόσου μετά την κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση. Η επίτευξη πλήρους κυτταρομείωσης, δηλαδή η απουσία μακροσκοπικά ορατής υπολειπόμενης νόσου, συνδέεται με καλύτερη επιβίωση και αποτελεί βασικό θεραπευτικό στόχο. Η έκβαση επηρεάζεται, επίσης, από την ανταπόκριση της νόσου στη συστηματική θεραπεία [41].

Συνολικά, η πρόγνωση του καρκίνου των ωοθηκών δεν καθορίζεται από έναν μεμονωμένο παράγοντα, αλλά από τη συνδυασμένη επίδραση του σταδίου, των ιστοπαθολογικών και μοριακών χαρακτηριστικών του όγκου, της δυνατότητας επίτευξης πλήρους κυτταρομείωσης και της ανταπόκρισης στη θεραπεία [41], [43]. Η ενσωμάτωση μοριακών χαρακτηριστικών στην κλινική αξιολόγηση αποκτά ολοένα μεγαλύτερη σημασία, καθώς συμβάλλει τόσο στην καλύτερη εκτίμηση της πρόγνωσης όσο και στην εξατομίκευση της θεραπευτικής στρατηγικής [41]. Στο πλαίσιο αυτό, τα miRNAs μελετώνται εντατικά ως υποσχόμενοι προγνωστικοί δείκτες, καθώς τα επίπεδα έκφρασής τους συσχετίζονται με το στάδιο της νόσου, την πιθανότητα υποτροπής και την ευαισθησία στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

2.10 Θεραπευτική αντιμετώπιση

Η θεραπευτική αντιμετώπιση του επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών καθορίζεται από το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό τύπο, τα μοριακά χαρακτηριστικά του όγκου και τη γενική κατάσταση της ασθενούς. Οι βασικοί θεραπευτικοί άξονες περιλαμβάνουν τη χειρουργική αντιμετώπιση και τη συστηματική χημειοθεραπεία, ενώ τα τελευταία χρόνια η ενσωμάτωση στοχευμένων θεραπειών και θεραπείας συντήρησης έχει διευρύνει σημαντικά τις διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές [41], [43].

2.10.1 Χειρουργική αντιμετώπιση

Η χειρουργική επέμβαση αποτελεί βασικό πυλώνα της θεραπείας του επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. Στα πρώιμα στάδια αποσκοπεί στην αφαίρεση του όγκου και

στην ακριβή χειρουργική σταδιοποίηση της νόσου. Η έκταση της επέμβασης εξαρτάται από το στάδιο, τον ιστολογικό τύπο και τα χαρακτηριστικά της ασθενούς, ενώ σε κατάλληλα επιλεγμένες νεότερες ασθενείς με πρώιμη νόσο μπορεί να εξεταστεί η δυνατότητα διατήρησης της γονιμότητας [41].

Στην προχωρημένη νόσο, βασικός στόχος της κυτταρομειωτικής χειρουργικής επέμβασης είναι να μην παραμείνει μακροσκοπικά ορατή υπολειπόμενη νόσος μετά την επέμβαση, καθώς η επίτευξη πλήρους κυτταρομείωσης συνδέεται με καλύτερη πρόγνωση. Όταν η πλήρης κυτταρομείωση θεωρείται εφικτή και η γενική κατάσταση της ασθενούς επιτρέπει τη χειρουργική επέμβαση, προτιμάται η πρωτογενής κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση (primary debulking surgery, PDS), ακολουθούμενη από συστηματική θεραπεία. Αντίθετα, όταν η πλήρης πρωτογενής κυτταρομείωση δεν θεωρείται εφικτή ή η ασθενής δεν είναι κατάλληλη για άμεση εκτεταμένη χειρουργική επέμβαση, μπορεί να προηγηθεί νεοεπικουρική χημειοθεραπεία (neoadjuvant chemotherapy, NACT) και να ακολουθήσει ενδιάμεση κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση (interval debulking surgery, IDS) [41], [43].

2.10.2 Χημειοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία αποτελεί βασικό συστατικό της θεραπευτικής αντιμετώπισης, ιδιαίτερα, στην προχωρημένη νόσο. Το καθιερωμένο σχήμα πρώτης γραμμής βασίζεται στον συνδυασμό ενός παραγώγου πλατίνας, κυρίως, καρβοπλατίνης, με μία ταξάνη, συνήθως, πακλιταξέλη. Στην προχωρημένη νόσο χορηγούνται, συνήθως, έξι κύκλοι συνδυασμένης χημειοθεραπείας. Στην πρώιμη νόσο, η ανάγκη για επικουρική χημειοθεραπεία εξαρτάται από το στάδιο και τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του όγκου [41], [43].

Η χημειοθεραπεία μπορεί να χορηγηθεί μετά την πρωτογενή χειρουργική επέμβαση ή σε επιλεγμένες ασθενείς με προχωρημένη νόσο στις οποίες δεν αναμένεται εξαρχής πλήρης κυτταρομείωση, ως νεοεπικουρική θεραπεία πριν από την ενδιάμεση κυτταρομειωτική επέμβαση [41].

Σε περίπτωση υποτροπής, το χρονικό διάστημα που έχει μεσολαβήσει από την τελευταία θεραπεία με πλατίνα αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την εκτίμηση της πιθανότητας ανταπόκρισης σε νέα θεραπεία με πλατίνα. Παραδοσιακά, η υποτροπιάζουσα νόσος διακρίνεται σε πλατινοευσensible (platinum-sensitive) και

πλατινοανθεκτική (platinum-resistant), αν και η σύγχρονη θεραπευτική προσέγγιση συνεκτιμά επιπλέον κλινικούς και μοριακούς παράγοντες [41], [43].

2.10.3 Στοχευμένες θεραπείες και θεραπεία συντήρησης

Η καλύτερη κατανόηση της μοριακής βιολογίας του καρκίνου των ωοθηκών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνεται η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab), ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF), το οποίο αναστέλλει την αγγειογένεση, δηλαδή τον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων που υποστηρίζουν την ανάπτυξη του όγκου. Μπορεί να χορηγηθεί σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία και να συνεχιστεί ως θεραπεία συντήρησης σε επιλεγμένες ασθενείς με προχωρημένη νόσο [41].

Ιδιαίτερη θέση στη σύγχρονη θεραπεία κατέχουν οι αναστολείς της πολύ (ADP-ριβόζης) πολυμεράσης (poly [ADP-ribose] polymerase, PARP), γνωστοί ως αναστολείς PARP (PARPi). Η αποτελεσματικότητά τους είναι ιδιαίτερα σημαντική σε όγκους με παθογόνες παραλλαγές των BRCA1/2 ή με ανεπάρκεια ομόλογου ανασυνδυασμού (HRD). Μετά από ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής με πλατίνα, οι PARP αναστολείς μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπεία συντήρησης, με την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας να καθορίζεται, μεταξύ άλλων, από την κατάσταση των BRCA1/2 και HRD [41].

Η ενσωμάτωση των μοριακών βιοδεικτών στη θεραπευτική λήψη αποφάσεων αποτελεί σημαντικό βήμα προς την εξατομικευμένη αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών. Η επιλογή της θεραπείας συντήρησης βασίζεται πλέον όχι μόνο στα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου και στην ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία, αλλά και στο μοριακό προφίλ του όγκου [41]. Στο πλαίσιο αυτό, η διερεύνηση του ρυθμιστικού ρόλου των miRNAs αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών που σχετίζονται με τη θεραπευτική ανταπόκριση και την ανάπτυξη αντοχής στη θεραπεία.

Κεφάλαιο 3^ο: Μοριακή βιολογία των microRNAs (miRNAs) – Βιογένεση, λειτουργία και ρύθμιση

3.1 Εισαγωγή στα microRNA (miRNAs)

Τα microRNAs (miRNAs) αποτελούν μια κατηγορία μικρών, ενδογενών, μη κωδικών μορίων RNA, μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Η δράση τους ασκείται, κυρίως, σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο, μέσω αλληλεπίδρασης με μόρια αγγελιαφόρου RNA (messenger RNA, mRNA), με αποτέλεσμα τη ρύθμιση της σταθερότητας και της μετάφρασής τους [44], [45]. Η αλληλεπίδραση μεταξύ miRNAs και των μορίων-στόχων τους βασίζεται στη συμπληρωματικότητα συγκεκριμένων αλληλουχιών, ενώ ένα miRNA μπορεί να ρυθμίζει περισσότερα από ένα mRNAs και, αντίστοιχα, ένα mRNA μπορεί να αποτελεί στόχο διαφορετικών miRNAs. Με τον τρόπο αυτό, σχηματίζονται σύνθετα ρυθμιστικά δίκτυα, τα οποία συμβάλλουν στον λεπτομερή έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης [45].

Η πρώτη ανακάλυψη ενός miRNA πραγματοποιήθηκε το 1993 κατά τη μελέτη της ανάπτυξης του νηματώδους *Caenorhabditis elegans*. Οι Lee, Feinbaum και Ambros διαπίστωσαν ότι το γονίδιο *lin-4*, το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προνυμφική ανάπτυξη του οργανισμού, δεν κωδικοποιεί πρωτεΐνη, αλλά παράγει μικρά μόρια RNA. Παράλληλες μελέτες έδειξαν ότι το *lin-4* ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του *lin-14* μέσω συμπληρωματικών αλληλουχιών στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' untranslated region, 3' UTR) του mRNA του. Η ανακάλυψη αυτή αποκάλυψε έναν νέο μηχανισμό ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, χωρίς ωστόσο να είναι ακόμη σαφές ότι πρόκειται για έναν ευρέως διαδεδομένο βιολογικό μηχανισμό [44].

Η ευρύτερη σημασία των μικρών αυτών ρυθμιστικών RNA έγινε εμφανής λίγα χρόνια αργότερα με την ανακάλυψη του *let-7*, ενός δεύτερου miRNA που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του *C. elegans*. Σε αντίθεση με το *lin-4*, η αλληλουχία του *let-7* βρέθηκε εξελικτικά συντηρημένη σε πολλά ζωικά είδη, γεγονός που αποτέλεσε σημαντική ένδειξη ότι τα μικρά ρυθμιστικά RNA δεν αποτελούσαν ιδιαιτερότητα του συγκεκριμένου οργανισμού. Στις αρχές της δεκαετίας του 2000 αναγνωρίστηκε πλέον η ύπαρξη μιας ευρείας κατηγορίας μικρών ρυθμιστικών RNA σε διαφορετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς και καθιερώθηκε ο όρος microRNA [44].

Έκτοτε, τα miRNAs έχουν αναδειχθεί σε σημαντικούς ρυθμιστές πολυάριθμων βιολογικών διεργασιών. Συμμετέχουν, μεταξύ άλλων, στη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης, του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της κυτταρικής επιβίωσης, ενώ η διαταραχή της έκφρασης ή της λειτουργίας τους έχει συσχετιστεί με ποικίλες παθολογικές καταστάσεις. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση, όπου μεταβολές στα πρότυπα έκφρασης των miRNAs μπορούν να επηρεάσουν γονίδια και σηματοδοτικές οδούς που σχετίζονται με την ανάπτυξη και εξέλιξη των νεοπλασμάτων [45]. Η πολύπλευρη συμμετοχή των miRNAs στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης έχει καταστήσει τη μελέτη της βιογένεσης, της λειτουργίας και της ρύθμισής τους ιδιαίτερα σημαντική για την κατανόηση τόσο φυσιολογικών όσο και παθολογικών διεργασιών.

3.2 Βιογένεση των miRNAs

Η βιογένεση των miRNAs αποτελεί μια πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία μεγαλύτερα πρόδρομα μόρια RNA υφίστανται διαδοχική επεξεργασία μέχρι τον σχηματισμό των ώριμων miRNAs. Η πλειονότητα των miRNAs παράγεται μέσω της κανονικής οδού βιογένεσης, η οποία περιλαμβάνει διαδοχικά στάδια στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα και βασίζεται στη δράση εξειδικευμένων ενζύμων και πρωτεϊνικών συμπλόκων. Παράλληλα, έχουν αναγνωριστεί μη κανονικές οδοί, οι οποίες παρακάμπτουν επιμέρους στάδια ή συστατικά της κανονικής διαδικασίας, αλλά καταλήγουν, επίσης, στον σχηματισμό λειτουργικών ώριμων miRNAs [44], [46], [47].

3.2.1 Κανονική οδός βιογένεσης των miRNAs

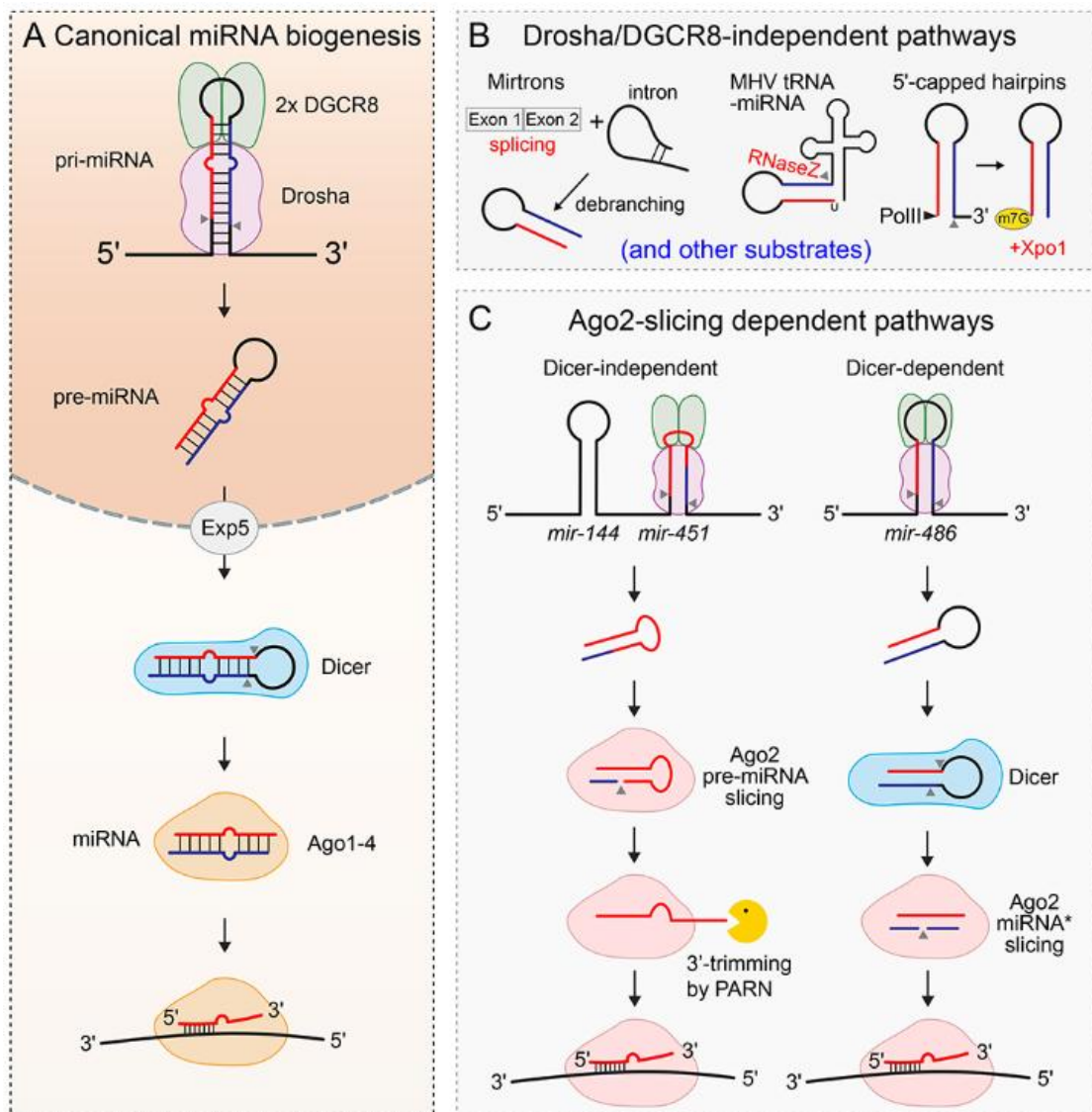
Η κανονική οδός βιογένεσης των miRNAs ξεκινά στον πυρήνα με τη μεταγραφή των γονιδίων που κωδικοποιούν miRNAs, κυρίως, από την RNA πολυμεράση II. Το αρχικό προϊόν της μεταγραφής είναι το πρωτογενές miRNA (primary miRNA, pri-miRNA), ένα μεγαλύτερο μόριο RNA που περιλαμβάνει μία ή περισσότερες χαρακτηριστικές δομές φουρκέτας [44], [47].

Στη συνέχεια, το pri-miRNA υφίσταται επεξεργασία στον πυρήνα από το σύμπλοκο Microprocessor, του οποίου βασικά συστατικά είναι η Drosha, μια ενδονουκλεάση της οικογένειας RNase III, και η πρωτεΐνη DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region 8). Η διάσπαση του pri-miRNA από το σύμπλοκο αυτό οδηγεί στον σχηματισμό ενός μικρότερου πρόδρομου μορίου μήκους περίπου 55–70

νουκλεοτιδίων, του πρόδρομου miRNA (precursor miRNA, pre-miRNA), το οποίο διατηρεί τη χαρακτηριστική δομή φουρκέτας [44], [46].

Το pre-miRNA μεταφέρεται, στη συνέχεια, από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα μέσω της Exportin-5 (XPO5), με διαδικασία που εξαρτάται από τη μικρή GTPάση Ran και την πρόσδεσή της στο GTP. Στον πυρήνα, η Exportin-5 συνδέεται με το pre-miRNA και τη Ran στην GTP-δεσμευμένη μορφή της (Ran-GTP), σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο που διέρχεται μέσω του πυρηνικού πόρου. Μετά την είσοδο του συμπλόκου στο κυτταρόπλασμα, η υδρόλυση του GTP σε GDP προκαλεί τη διάσπαση του συμπλόκου και την απελευθέρωση του pre-miRNA [46]. Στη συνέχεια, το pre-miRNA αναγνωρίζεται από την ενδονουκλεάση Dicer, η οποία ανήκει στην οικογένεια RNase III και το επεξεργάζεται αποκόπτοντας την τελική περιοχή της φουρκέτας, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός μικρού δίκλωνου RNA, του miRNA duplex [44], [46], [47].

Το παραγόμενο miRNA duplex αλληλεπιδρά, στη συνέχεια, με μία πρωτεΐνη της οικογένειας Argonaute (AGO), η οποία αποτελεί βασικό συστατικό του επαγόμενου από RNA συμπλόκου αποσιώπησης (RNA-induced silencing complex, RISC). Από τους δύο κλώνους του miRNA duplex, ο ένας επιλέγεται ως λειτουργικός ή καθοδηγητικός κλώνος, ενώ ο δεύτερος κλώνος, συνήθως, απομακρύνεται και αποικοδομείται. Το ώριμο miRNA παραμένει συνδεδεμένο με την πρωτεΐνη AGO και κατευθύνει το λειτουργικό σύμπλοκο προς συμπληρωματικά RNA-στόχους, επιτρέποντας τη ρύθμιση της γονιδιακής τους έκφρασης [44], [46]. Ο ακριβής μηχανισμός αναγνώρισης των mRNA-στόχων και οι συνέπειες της αλληλεπίδρασης αυτής αναλύονται στην Ενότητα 3.3. Η κανονική οδός βιογένεσης των miRNAs παρουσιάζεται σχηματικά στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5: Κανονική και μη κανονικές οδοί βιογένεσης των miRNAs. Πηγή: Shang et al., 2023 [44].

3.2.2 Μη κανονικές οδοί βιογένεσης των miRNAs

Εκτός από την κανονική οδό, έχουν περιγραφεί μη κανονικές οδοί βιογένεσης των miRNAs, στις οποίες παρακάμπτονται συγκεκριμένα στάδια ή συστατικά της κανονικής διαδικασίας, όπως το σύμπλοκο Microprocessor ή η Dicer, όπως φαίνεται στην εικόνα 4. Παρά τις διαφορές αυτές, οι οδοί καταλήγουν στην παραγωγή λειτουργικών ώριμων miRNAs [44], [46].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα mirtrons, τα οποία προέρχονται από ιντρόνια και σχηματίζονται μέσω του μηχανισμού συρραφής και της επακόλουθης αποδιακλάδωσης των ιντρονίων. Με τον τρόπο αυτό, δημιουργούνται πρόδρομες δομές

που προσομοιάζουν στα pre-miRNAs, χωρίς να απαιτείται προηγούμενη επεξεργασία από το σύμπλοκο Drosha–DGCR8. Στη συνέχεια, οι πρόδρομες αυτές μορφές εισέρχονται στα μεταγενέστερα στάδια της βιογένεσης των miRNAs [44], [46].

Μια διαφορετική μη κανονική οδό ακολουθεί το miR-451, του οποίου το πρόδρομο μόριο διαθέτει βραχύ στέλεχος και δεν μπορεί να υποστεί την τυπική επεξεργασία από τη Dicer. Μετά την αρχική επεξεργασία από το σύμπλοκο Microprocessor, το pre-miR-451 συνδέεται απευθείας με την Argonaute 2 (AGO2), η οποία συμμετέχει στην ενδονουκλεολυτική διάσπασή του. Ακολουθεί περαιτέρω επεξεργασία του 3' άκρου με τη συμμετοχή της πολύ(A)-ειδικής ριβονουκλεάσης (poly(A)-specific ribonuclease, PARN), με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό του ώριμου miR-451. Επομένως, η συγκεκριμένη οδός αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα βιογένεσης miRNA ανεξάρτητης από τη Dicer [44].

3.3 Χαρακτηριστικά και μηχανισμοί δράσης των miRNAs

Μετά την ολοκλήρωση της βιογένεσής τους, τα ώριμα miRNAs ασκούν τη ρυθμιστική τους δράση, κυρίως, σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με συγκεκριμένα RNA-στόχους. Η αναγνώριση των στόχων πραγματοποιείται μέσω του RISC και βασίζεται στη συμπληρωματικότητα μεταξύ του miRNA και της αντίστοιχης αλληλουχίας του RNA-στόχου. Καθοριστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση αυτή διαδραματίζει η περιοχή seed, η οποία εντοπίζεται στο 5' άκρο του miRNA και περιλαμβάνει, συνήθως, 2-8 νουκλεοτίδια. Η συμπληρωματικότητα της περιοχής αυτής με την αλληλουχία του RNA-στόχου αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την αναγνώριση και τη ρυθμιστική δράση των miRNAs [44], [48], [49].

Στα ζωικά κύτταρα, οι θέσεις πρόσδεσης των miRNAs εντοπίζονται συχνότερα στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' untranslated region, 3'-UTR) των mRNAs, αν και μπορούν να υπάρχουν και σε άλλες περιοχές του μεταγράφου, όπως η κωδικοποιούσα αλληλουχία (coding sequence, CDS) ή η 5' αμετάφραστη περιοχή (5' untranslated region, 5'-UTR). Η αναγνώριση ενός στόχου δεν εξαρτάται αποκλειστικά από την περιοχή seed, αλλά επηρεάζεται και από πρόσθετους παράγοντες, όπως η συμπληρωματικότητα στο 3' άκρο του miRNA, η προσβασιμότητα της θέσης-στόχου και το ευρύτερο αλληλουχιακό της περιβάλλον [48], [49]. Ως αποτέλεσμα, ένα miRNA μπορεί να ρυθμίζει πολλαπλά διαφορετικά mRNAs, ενώ ένα συγκεκριμένο mRNA

μπορεί να αποτελεί στόχο περισσότερων του ενός miRNAs, συμβάλλοντας στη δημιουργία σύνθετων δικτύων μετα-μεταγραφικής ρύθμισης [47], [48].

Μετά την αναγνώριση του mRNA-στόχου, το RISC προκαλεί, κατά κύριο λόγο, καταστολή της μετάφρασης και αποσταθεροποίηση του mRNA. Η πρωτεΐνη AGO, μέσω της αλληλεπίδρασής της με την πρωτεΐνη TNRC6 (GW182), προάγει την αποαδενυλίωση, δηλαδή την απομάκρυνση της πολυ(A) ουράς από το 3' άκρο του mRNA και την απομάκρυνση του καλύμματος από το 5' άκρο του mRNA, διευκολύνοντας την επακόλουθη αποικοδόμησή του. Οι μηχανισμοί αυτοί έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη μείωση της έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου σε επίπεδο πρωτεΐνης [44], [47].

Σε σπάνιες περιπτώσεις στα ζωικά κύτταρα, όταν υπάρχει πλήρης ή σχεδόν πλήρης συμπληρωματικότητα μεταξύ του miRNA και του RNA-στόχου, η πρωτεΐνη AGO2 μπορεί να λειτουργήσει ως ενδονουκλεάση και να προκαλέσει άμεση διάσπαση του mRNA. Ο μηχανισμός αυτός διαφέρει από τη συνηθέστερη δράση των miRNAs στα θηλαστικά, όπου επικρατεί η ατελής συμπληρωματικότητα και η ρύθμιση πραγματοποιείται, κυρίως, μέσω συνδυασμού καταστολής της μετάφρασης και αποσταθεροποίησης του mRNA [44].

3.4 Βιολογικές λειτουργίες των miRNAs στην κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση

Τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση ενός ευρέος φάσματος φυσιολογικών κυτταρικών διεργασιών, συμβάλλοντας στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης και στον συντονισμό της γονιδιακής έκφρασης. Μέσω της μετα-μεταγραφικής ρύθμισης των γονιδίων-στόχων τους, μπορούν να επηρεάζουν διεργασίες, όπως ο κυτταρικός κύκλος, ο πολλαπλασιασμός, η επιβίωση και ο κυτταρικός θάνατος. Η δράση τους δεν περιορίζεται σε μεμονωμένα γονίδια, αλλά μπορεί να επεκτείνεται σε ευρύτερα ρυθμιστικά δίκτυα και σηματοδοτικές οδούς που ελέγχουν την ανάπτυξη και την κυτταρική μοίρα [44], [45]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η αλληλεπίδραση των miRNAs με τη σηματοδοτική οδό Wnt/ β -catenin, πολλαπλά συστατικά της οποίας υπόκεινται σε ρύθμιση από miRNAs, συμβάλλοντας στην ακριβή ρύθμιση της σηματοδότησης κατά την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση [50].

Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος των miRNAs στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης των βλαστικών κυττάρων. Διαφορετικά πρότυπα έκφρασης miRNAs χαρακτηρίζουν επιμέρους κυτταρικές καταστάσεις, ενώ μεταβολές στην έκφρασή τους μπορούν να ευνοήσουν είτε τη διατήρηση της πολυδυναμίας είτε τη μετάβαση προς τη διαφοροποίηση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η οικογένεια let-7, μέλη της οποίας εμφανίζουν αυξημένη έκφραση κατά τη διαφοροποίηση. Η ωρίμανση των let-7 miRNAs ρυθμίζεται από τις πρωτεΐνες που δεσμεύουν RNA (RNA-binding proteins, RBPs), LIN28A και LIN28B, οι οποίες αναστέλλουν τη βιογένεσή τους σε αδιαφοροποίητα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα. Κατά τη διαφοροποίηση, η μείωση της δράσης των LIN28 επιτρέπει την αύξηση των ώριμων let-7, συμβάλλοντας στην καταστολή γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοανανέωση και την πολυδυναμία. Επιπλέον, το miR-145 μπορεί να προάγει τη διαφοροποίηση μέσω της μετα-μεταγραφικής ρύθμισης σημαντικών παραγόντων πολυδυναμίας, όπως οι OCT4, SOX2 και KLF4 [51].

Συνολικά, τα miRNAs λειτουργούν ως σημαντικοί ρυθμιστές της ισορροπίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης. Μέσω της συντονισμένης επίδρασής τους σε γονίδια-στόχους και σηματοδοτικές οδούς συμβάλλουν στη διατήρηση της κυτταρικής ταυτότητας και της φυσιολογικής ανάπτυξης των ιστών. Αντίθετα, η διαταραχή των ρυθμιστικών αυτών δικτύων μπορεί να μεταβάλει την κυτταρική συμπεριφορά και να συμβάλει στην εμφάνιση παθολογικών φαινοτύπων [45], [51].

3.5 Ρύθμιση της έκφρασης των miRNAs

Η έκφραση των miRNAs αποτελεί μια αυστηρά ρυθμιζόμενη διαδικασία, η οποία ελέγχεται σε διαφορετικά στάδια: από τη μεταγραφή των γονιδίων τους έως την επεξεργασία, την ωρίμανση και την αποικοδόμηση των ώριμων μορίων. Οι μηχανισμοί αυτοί καθορίζουν την ποσότητα και τη διαθεσιμότητα των λειτουργικών miRNAs και επιτρέπουν τη δυναμική μεταβολή των προτύπων έκφρασής τους ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο, το αναπτυξιακό στάδιο και τα ενδοκυττάρια ή εξωκυττάρια ερεθίσματα [44].

3.5.1 Μεταγραφική και επιγενετική ρύθμιση

Η ρύθμιση της έκφρασης των miRNAs αρχίζει ήδη στο επίπεδο της μεταγραφής. Η πλειονότητα των γονιδίων miRNA μεταγράφεται από την RNA πολυμεράση II και η μεταγραφική τους δραστηριότητα ελέγχεται από μεταγραφικούς παράγοντες και ρυθμιστικά στοιχεία των αντίστοιχων γονιδιακών περιοχών. Κεντρικοί μεταγραφικοί παράγοντες, όπως ο c-Myc και ο p53, μπορούν να ενεργοποιούν ή να καταστέλλουν την έκφραση συγκεκριμένων miRNAs (π.χ. το σύμπλεγμα miR-17~92 ή την οικογένεια miR-34 αντίστοιχα) συνδέοντας την έκφραση των miRNAs με τη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της απόκρισης σε κυτταρικά ερεθίσματα. [44], [52].

Σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν, επίσης, οι επιγενετικοί μηχανισμοί, κυρίως, η μεθυλίωση του DNA στις νησίδες CpG των υποκινητών των γονιδίων miRNA και οι τροποποιήσεις των ιστονών, όπως η ακετυλίωση και η μεθυλίωση. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορούν να μεταβάλλουν τη δομή της χρωματίνης και να επηρεάσουν τη μεταγραφή των miRNAs χωρίς μεταβολή της αλληλουχίας του DNA. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η οικογένεια miR-34, καθώς η υπερμεθυλίωση των νησίδων CpG στις περιοχές των υποκινητών των γονιδίων της έχει συσχετιστεί με μεταγραφική αποσιώπηση και μειωμένη έκφραση των αντίστοιχων miRNAs σε διάφορους τύπους καρκίνου [52].

3.5.2 Μετα-μεταγραφική ρύθμιση

Μετά την ολοκλήρωση της μεταγραφής, τα επίπεδα των λειτουργικών miRNAs ρυθμίζονται μέσω μηχανισμών που ελέγχουν την ωρίμανση και την αποικοδόμησή τους. Ο έλεγχος αυτός ασκείται σε διαφορετικά στάδια της μετα-μεταγραφικής επεξεργασίας. Η επεξεργασία των pri-miRNAs από το σύμπλοκο Drosha-DGCR8, η πυρηνική εξαγωγή των pre-miRNAs μέσω της Exportin-5 και η τελική σχάση από τη Dicer αποτελούν κομβικά σημεία ελέγχου. Η αποτελεσματικότητα των σταδίων αυτών επηρεάζεται από τη δευτεροταγή δομή των πρόδρομων μορίων και από την αλληλεπίδρασή τους με ειδικές πρωτεΐνες που δεσμεύουν RNA (RBPs) [44], [46].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα μετα-μεταγραφικής ρύθμισης αποτελεί η οικογένεια let-7. Οι πρωτεΐνες LIN28A και LIN28B αναγνωρίζουν τη δομή της βρόχου των πρόδρομων μορφών των let-7 (pri-let-7 και pre-let-7) και παρεμποδίζουν την

κανονική επεξεργασία τους από τις Drosha και Dicer. Ειδικότερα, η LIN28 μπορεί να επιστρατεύει τις τελικές ουριδυλολοτρανσφεράσες TUT4 και TUT7 (terminal uridylyltransferases), οι οποίες προσθέτουν κατάλοιπα ουριδίνης στο 3' άκρο του pre-let-7. Η ουριδυλίωση αυτή αναστέλλει την επεξεργασία του από τη Dicer και προάγει την αποικοδόμησή του από την εξωνουκλεάση DIS3L2, περιορίζοντας έτσι τον σχηματισμό του ώριμου let-7. [44].

Τέλος, τα επίπεδα των miRNAs επηρεάζονται από τη σταθερότητα και την αποδόμηση των ώριμων μορίων. Παρότι τα περισσότερα ώριμα miRNAs είναι εξαιρετικά σταθερά εντός του συμπλόκου RISC, ο χρόνος ζωής τους ελέγχεται δυναμικά. Ειδικές αλληλεπιδράσεις με RNA-στόχους που παρουσιάζουν υψηλή συμπληρωματικότητα μπορούν να επάγουν την αποικοδόμηση του συνδεδεμένου miRNA μέσω του μηχανισμού αποικοδόμησης των miRNAs που κατευθύνεται από RNA-στόχους (target-directed miRNA degradation, TDMD). Επομένως, η ρύθμιση της αφθονίας των miRNAs περιλαμβάνει έναν αμφίδρομο και συνεχή έλεγχο μεταξύ σύνθεσης, ωρίμανσης και στοχευμένης αποικοδόμησης [44].

3.6 Κυκλοφορούντα miRNAs (circulating miRNAs)

Τα miRNAs δεν εντοπίζονται αποκλειστικά στο εσωτερικό των κυττάρων, αλλά ανιχνεύονται και στο εξωκυττάριο περιβάλλον, όπου αναφέρονται ως κυκλοφορούντα miRNAs (circulating miRNAs, c-miRNAs). Έχουν εντοπιστεί σε διάφορα βιολογικά υγρά, όπως το πλάσμα και ο ορός του αίματος, τα ούρα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τους αποτελεί η σχετικά υψηλή σταθερότητά τους στην κυκλοφορία, παρά την παρουσία ριβονουκλεασών (RNases), οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν την αποικοδόμηση του RNA [53].

Η σταθερότητα αυτή σχετίζεται, μεταξύ άλλων, με τη μορφή υπό την οποία τα miRNAs απαντώνται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Ορισμένα μεταφέρονται προστατευμένα μέσα σε εξωκυττάρια κυστίδια (extracellular vesicles, EVs), ενώ άλλα βρίσκονται συνδεδεμένα με πρωτεΐνες. Χαρακτηριστικά, έχει αποδειχθεί ότι σημαντικό μέρος των κυκλοφορούντων miRNAs στο ανθρώπινο πλάσμα βρίσκεται σε σύμπλοκα με την πρωτεΐνη Argonaute 2 (AGO2), γεγονός που συμβάλλει στην προστασία τους από την αποικοδόμηση [54].

Η παρουσία miRNAs σε εξωκυττάρια κυστίδια έχει προκαλέσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως προς την πιθανή συμμετοχή τους στη διακυτταρική επικοινωνία. Τα εξωκυττάρια κυστίδια μπορούν να μεταφέρουν βιολογικά ενεργά μόρια, συμπεριλαμβανομένων των miRNAs, μεταξύ κυττάρων και να επηρεάζουν τη λειτουργία των κυττάρων-δεκτών [55]. Ωστόσο, η λειτουργική σημασία της μεταφοράς miRNAs μέσω εξωκυττάρων κυστιδίων εξακολουθεί να διερευνάται και δεν μπορεί να αποδοθεί σε όλα τα κυκλοφορούντα miRNAs.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση των κυκλοφορούντων miRNAs ως πιθανών μη επεμβατικών βιοδεικτών. Η δυνατότητα ανίχνευσής τους σε εύκολα προσβάσιμα βιολογικά υγρά, σε συνδυασμό με τη σχετική σταθερότητά τους και τις μεταβολές των επιπέδων συγκεκριμένων miRNAs σε παθολογικές καταστάσεις, έχει οδηγήσει στη μελέτη τους για την ανίχνευση και την πρόγνωση του καρκίνου, καθώς και για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Παρά τις προοπτικές αυτές, η κλινική αξιοποίησή τους παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις, καθώς παράγοντες που σχετίζονται με τη συλλογή και την επεξεργασία των βιολογικών δειγμάτων, καθώς και με την ανάλυση και την κανονικοποίηση των δεδομένων, μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα [53].

3.7 Μέθοδοι απομόνωσης, ανίχνευσης και μελέτης των miRNAs

Η αξιόπιστη μελέτη των miRNAs εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση και την ανάλυσή τους. Το μικρό μέγεθος των miRNAs και η χαμηλή συγκέντρωσή τους, ιδιαίτερα, στα βιολογικά υγρά, καθιστούν την απομόνωση και την ποσοτικοποίησή τους ιδιαίτερα απαιτητικές και επιβάλλουν τη χρήση κατάλληλων και ευαίσθητων αναλυτικών μεθόδων. Η επιλογή της μεθόδου επηρεάζεται από τον τύπο του βιολογικού δείγματος, την ποσότητα του διαθέσιμου υλικού και τον σκοπό της ανάλυσης [53].

3.7.1 Απομόνωση των miRNAs

Η απομόνωση αποτελεί κρίσιμο στάδιο για τη μελέτη των miRNAs, καθώς η απόδοση και η καθαρότητα του απομονωμένου RNA μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τα αποτελέσματα των επόμενων αναλυτικών διαδικασιών. Τα miRNAs μπορούν να απομονωθούν από διαφορετικά βιολογικά δείγματα, όπως κύτταρα, ιστούς και

βιολογικά υγρά, ενώ η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του δείγματος και την εφαρμογή που θα ακολουθήσει [53].

Μία από τις κλασικές προσεγγίσεις είναι η οργανική εκχύλιση με φαινόλη και χλωροφόρμιο, συνήθως, παρουσία θειοκυανικής γουανιδίνης. Η μέθοδος βασίζεται στη λύση του δείγματος, την αδρανοποίηση των ριβονουκλεασών και τον διαχωρισμό του RNA από πρωτεΐνες και άλλα κυτταρικά συστατικά. Παρά την ευρεία εφαρμογή της, περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια χειρισμού και τη χρήση οργανικών διαλυτών, ενώ η απόδοση μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον τύπο και την ποσότητα του αρχικού δείγματος [53], [56].

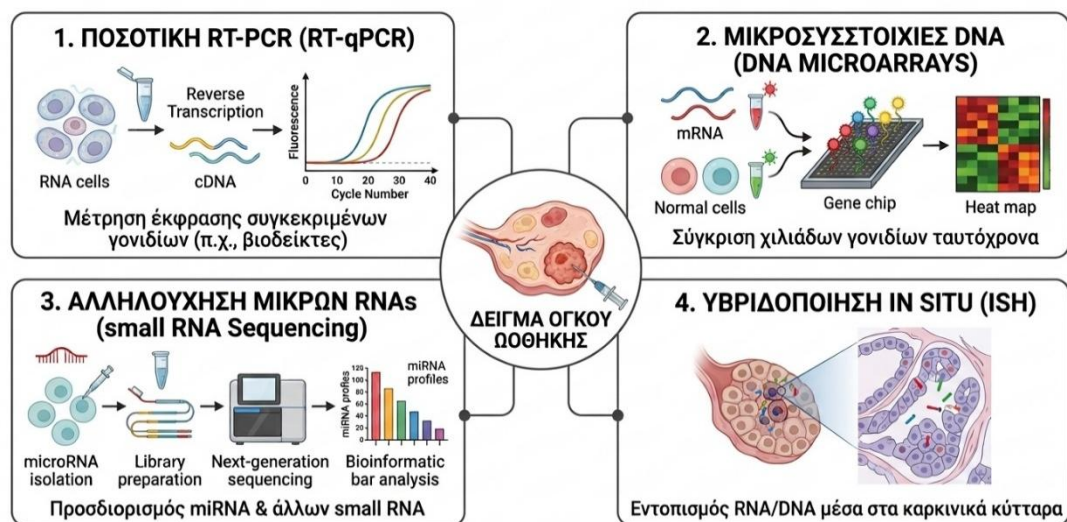
Εναλλακτικά, χρησιμοποιούνται ευρέως μέθοδοι στερεάς φάσης, στις οποίες τα μόρια RNA προσδένονται σε κατάλληλο υπόστρωμα και, μετά την απομάκρυνση των προσμίξεων, εκλύονται σε καθαρισμένη μορφή. Σε αυτές περιλαμβάνονται οι μέθοδοι που βασίζονται σε στήλες πυριτίου (silica-based columns), οι οποίες έχουν ενσωματωθεί σε πολλά εμπορικά συστήματα απομόνωσης RNA, καθώς και μέθοδοι που χρησιμοποιούν μαγνητικά σφαιρίδια (magnetic beads). Η τελευταία αποτελεί μια εύλικτη προσέγγιση για την απομόνωση RNA και είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για αυτοματοποιημένες εφαρμογές και την ταυτόχρονη επεξεργασία μεγάλου αριθμού δειγμάτων. Η δέσμευση του RNA στην επιφάνεια των σφαιριδίων και η εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου επιτρέπουν τον διαχωρισμό του από τα υπόλοιπα συστατικά του δείγματος, περιορίζοντας την ανάγκη επαναλαμβανόμενων φυγοκεντρήσεων [56].

Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται κατά την απομόνωση κυκλοφορούντων miRNAs από βιολογικά υγρά, όπως πλάσμα και ο ορός, λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης RNA και της επίδρασης προαναλυτικών και μεθοδολογικών παραγόντων. Η μέθοδος συλλογής και επεξεργασίας του δείγματος, οι συνθήκες αποθήκευσης και η επιλογή της μεθόδου απομόνωσης μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της απομόνωσης και, κατά συνέπεια, τα επίπεδα των miRNAs που ανιχνεύονται στο δείγμα [53].

3.7.2 Μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των miRNAs

Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των miRNAs παρουσιάζουν ιδιαίτερες τεχνικές απαιτήσεις λόγω του μικρού μήκους τους, της συχνά χαμηλής συγκέντρωσής τους και της υψηλής ομοιότητας αλληλουχιών μεταξύ συγγενικών miRNAs. Για τον λόγο αυτό,

έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις, οι οποίες διαφέρουν ως προς την ευαισθησία, την ειδικότητα, τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης πολλών miRNAs και τις απαιτήσεις σε δείγμα και εξοπλισμό [53], [57]. Οι μοριακές τεχνικές που χρησιμοποιούνται απεικονίζονται στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Σχηματική αναπαράσταση των κύριων αναλυτικών προσεγγίσεων για τη μελέτη των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. Πηγή: Προσαρμογή από BioRender

Η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης μετά από αντίστροφη μεταγραφή (reverse transcription quantitative PCR, RT-qPCR) αποτελεί μία από τις συχνότερα χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την ποσοτικοποίηση γνωστών miRNAs. Αρχικά, το miRNA μετατρέπεται σε συμπληρωματικό DNA (complementary DNA, cDNA) μέσω αντίστροφης μεταγραφής και, στη συνέχεια, το cDNA ενισχύεται και ποσοτικοποιείται σε πραγματικό χρόνο. Η RT-qPCR χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία με ευρύ δυναμικό εύρος και χρησιμοποιείται συχνά για την επιβεβαίωση αποτελεσμάτων που έχουν προκύψει από μεθόδους ευρύτερης ανάλυσης. Ωστόσο, η εφαρμογή της προϋποθέτει προηγούμενη γνώση της αλληλουχίας του miRNA-στόχου και περιορίζεται στην ανίχνευση και ποσοτικοποίηση γνωστών miRNAs, χωρίς να επιτρέπει την ανακάλυψη νέων miRNAs [53], [57].

Μια διαφορετική προσέγγιση για τη μελέτη της έκφρασης των miRNAs αποτελούν οι μικροσυστοιχίες (microarrays), οι οποίες βασίζονται στον υβριδισμό των miRNAs του δείγματος με ειδικούς ανιχνευτές συμπληρωματικών αλληλουχιών, ακινητοποιημένους σε στερεή επιφάνεια. Η τεχνική επιτρέπει την παράλληλη ανάλυση μεγάλου αριθμού γνωστών miRNAs και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τη μελέτη των

προτύπων έκφρασής τους. Παρουσιάζει, ωστόσο, χαμηλότερη ευαισθησία σε σχέση με την RT-qPCR και περιορίζεται στην ανάλυση γνωστών miRNAs, καθώς προϋποθέτει προκαθορισμένες αλληλουχίες-στόχους [57].

Μια πιο σύγχρονη προσέγγιση για την ολοκληρωμένη μελέτη των miRNAs αποτελεί η **αλληλούχηση μικρών RNAs (small RNA sequencing, small RNA-seq)**, η οποία βασίζεται σε τεχνολογίες αλληλούχησης νέας γενιάς (next-generation sequencing, NGS). Η μέθοδος επιτρέπει την παράλληλη ανάλυση μεγάλου αριθμού miRNAs, χωρίς να απαιτείται προηγούμενη γνώση των αλληλουχιών τους, παρέχοντας τη δυνατότητα ανίχνευσης τόσο γνωστών όσο και νέων miRNAs, καθώς και παραλλαγών τους, όπως τα ισομερή miRNA (isomiRs). Παρά τα σημαντικά πλεονεκτήματά της, παρουσιάζει αυξημένες απαιτήσεις ως προς το κόστος, την προετοιμασία του δείγματος και τη βιοπληροφορική ανάλυση των δεδομένων [53], [57].

Τέλος, μια επιπλέον μέθοδος για τη μελέτη των miRNAs αποτελεί η **υβριδοποίηση in situ (in situ hybridization, ISH)**, η οποία επιτρέπει την ανίχνευση συγκεκριμένων miRNAs απευθείας σε κύτταρα ή ιστικές τομές, παρέχοντας πληροφορίες για τη χωρική κατανομή της έκφρασής τους. Σε αντίθεση με τις προηγούμενες μεθόδους, η ISH δεν χρησιμοποιείται, κυρίως, για την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση μεγάλου αριθμού miRNAs, αλλά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τον εντοπισμό της έκφρασης συγκεκριμένων miRNAs σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους ή περιοχές ενός ιστού [57]. Τα βασικά χαρακτηριστικά, καθώς και τα κύρια πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί των παραπάνω μεθόδων, συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Κύριες μέθοδοι ανίχνευσης και μελέτης των miRNAs. Πηγή: Προσαρμογή από [53],[57].

Μέθοδος	Βασική αρχή	Κύρια πλεονεκτήματα	Κύριοι περιορισμοί
RT-qPCR	Αντίστροφη μεταγραφή του miRNA σε cDNA και ποσοτικοποίηση μέσω PCR πραγματικού χρόνου	Υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, κατάλληλη για ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων miRNAs	Απαιτεί προηγούμενη γνώση της αλληλουχίας-στόχου και περιορίζεται στην ανάλυση γνωστών miRNAs και απαιτεί κατάλληλη κανονικοποίηση

Μικροσυστοιχίες (Microarrays)	Υβριδισμός των miRNAs με συμπληρωματικούς ανιχνευτές σε στερεή επιφάνεια	Παράλληλη ανάλυση μεγάλου αριθμού γνωστών miRNAs	Χαμηλότερη ευαισθησία από την RT-qPCR και περιορισμός σε γνωστές αλληλουχίες
Αλληλούχηση μικρών RNAs (small RNA-seq)	Αλληλούχηση μικρών RNAs μέσω τεχνολογιών NGS	Ανίχνευση γνωστών και νέων miRNAs και ανάλυση μεγάλης κλίμακας	Αυξημένο κόστος και ανάγκη βιοπληροφορικής ανάλυσης
Υβριδοποίηση in situ (ISH)	Υβριδισμός ειδικών ανιχνευτών με miRNAs απευθείας σε κύτταρα ή ιστούς	Προσδιορισμός της χωρικής και κυτταρικής κατανομής της έκφρασης	Περιορισμένη εφαρμογή για ανάλυση μεγάλου αριθμού miRNAs και απαιτητική ποσοτικοποίηση

Κεφάλαιο 4^ο: Ρυθμιστικός ρόλος των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών

4.1 Απορρύθμιση της έκφρασης των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών

Η απορρύθμιση της έκφρασης των miRNAs αποτελεί σημαντικό μοριακό χαρακτηριστικό του καρκίνου των ωοθηκών και μπορεί να επηρεάσει ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών διεργασιών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της νόσου. Συγκριτικές αναλύσεις μεταξύ νεοπλασματικού και μη νεοπλασματικού ιστού έχουν αναδείξει διακριτά πρότυπα έκφρασης, τα οποία περιλαμβάνουν τόσο αυξημένη όσο και μειωμένη έκφραση συγκεκριμένων miRNAs. Σε μελέτη ανάλυσης του προφίλ έκφρασης σε 60 δείγματα καρκίνου των ωοθηκών και 17 μη νεοπλασματικά δείγματα, εντοπίστηκε μεγάλος αριθμός miRNAs με διαφοροποιημένη έκφραση. Από αυτά, 54 παρουσίασαν αντίστοιχη και στατιστικά σημαντική απορρύθμιση και σε ανεξάρτητα δεδομένα του The Cancer Genome Atlas (TCGA). Μεταξύ των miRNAs που επιβεβαιώθηκαν, τα miR-99a-5p και miR-145-5p εμφάνισαν μειωμένη έκφραση, ενώ το miR-224-5p αυξημένη έκφραση στον νεοπλασματικό ιστό [58].

Οι μεταβολές αυτές δεν συγκροτούν ένα ενιαίο πρότυπο που χαρακτηρίζει όλους τους όγκους των ωοθηκών. Η έκφραση των miRNAs παρουσιάζει ετερογένεια και επηρεάζεται από τα μοριακά και ιστολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, καθώς και από το είδος του βιολογικού δείγματος που εξετάζεται. Η ετερογένεια αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά την ερμηνεία των διαφορετικών προφίλ miRNA που αναφέρονται μεταξύ μελετών και υπογραμμίζει την ανάγκη αξιολόγησής τους μέσα στο συγκεκριμένο βιολογικό πλαίσιο του καρκίνου των ωοθηκών.

Οι μηχανισμοί που οδηγούν στην απορρύθμιση των miRNAs είναι σύνθετοι και μπορούν να δρουν σε διαφορετικά επίπεδα. Γενωμικές μεταβολές στις περιοχές όπου εντοπίζονται γονίδια miRNA, καθώς και επιγενετικοί μηχανισμοί, μπορούν να οδηγήσουν σε μεταβολή της έκφρασής τους. Σε ολοκληρωμένη γονιδιωματική ανάλυση επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών διαπιστώθηκε εκτεταμένη μείωση της έκφρασης miRNAs κατά την κακοήγη εξαλλαγή και την εξέλιξη του όγκου. Η απώλεια αριθμού αντιγράφων εκτιμήθηκε ότι μπορούσε να εξηγήσει περίπου το 15% των miRNAs με μειωμένη έκφραση σε προχωρημένους όγκους, ενώ η επιγενετική αποσιώπηση τουλάχιστον περίπου το 36% [59].

Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί έναν από τους επιγενετικούς μηχανισμούς που μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των miRNAs. Ειδικότερα, μεταβολές της μεθυλίωσης στις περιοχές υποκινητών των γονιδίων που σχετίζονται με miRNAs μπορούν να τροποποιήσουν τη μεταγραφή τους συμβάλλοντας στην απορρύθμιση της έκφρασης των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών [60].

Πέρα από τις γενωμικές και επιγενετικές μεταβολές, στην απορρύθμιση των miRNAs μπορούν να συμβάλουν και διαταραχές της διαδικασίας βιογένεσής τους. Σε μελέτη 111 ασθενών με διηθητικό επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών, μειωμένα επίπεδα mRNA της Dicer και της Drosha παρατηρήθηκαν στο 60% και 51% των δειγμάτων, αντίστοιχα. Η χαμηλή έκφραση της Dicer συσχετίστηκε με προχωρημένο στάδιο της νόσου, ενώ η χαμηλή έκφραση της Drosha με υποβέλτιστη κυτταρομείωση. Παράλληλα, η χαμηλή έκφραση της Dicer αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας μειωμένης επιβίωσης για τη νόσο [61]. Ωστόσο, οι μεταβολές των ενζύμων αυτών δεν φαίνεται να αποτελούν καθολικό μηχανισμό απορρύθμισης των miRNAs, καθώς σε διαφορετική ανάλυση επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών η εκτεταμένη μείωση της έκφρασης miRNAs σε προχωρημένους όγκους δεν συνοδευόταν από σημαντική μεταβολή της έκφρασης των Dicer και Drosha [59].

Η λειτουργική επίδραση της απορρύθμισης εξαρτάται από τα γονίδια-στόχους και τα ρυθμιστικά δίκτυα που επηρεάζονται από κάθε miRNA. Η αυξημένη έκφραση συγκεκριμένων miRNAs μπορεί να περιορίσει τη δράση γονιδίων με ογκοκατασταλτική λειτουργία, ενώ η μειωμένη έκφραση άλλων μπορεί να επιτρέψει την αυξημένη έκφραση γονιδίων που προάγουν τον κακοήγη φαινότυπο. Έτσι, ανάλογα με τους μοριακούς τους στόχους και το κυτταρικό πλαίσιο, τα απορρυθμισμένα miRNAs μπορούν να αποκτήσουν, κυρίως, ογκογόνο ή ογκοκατασταλτική λειτουργία. Η διάκριση αυτή αποτελεί τη βάση για την εξέταση των ογκογόνων και ογκοκατασταλτικών miRNAs στις επόμενες ενότητες.

4.2 Ογκογόνα miRNAs

Τα ογκογόνα miRNAs (oncomiRs) αποτελούν λειτουργική κατηγορία miRNAs, των οποίων η αυξημένη έκφραση μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη και εξέλιξη του κακοήθους φαινοτύπου. Η ογκογόνος δράση τους ασκείται, κυρίως, μέσω της αρνητικής ρύθμισης γονιδίων με ογκοκατασταλτική ή προαποπτωτική λειτουργία, με αποτέλεσμα την απορρύθμιση σηματοδοτικών οδών που ελέγχουν τον κυτταρικό

πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, τη μετανάστευση και τη διήθηση των καρκινικών κυττάρων. Στον καρκίνο των ωοθηκών έχουν αναγνωριστεί αρκετά miRNAs με ογκογόνο δράση, τα οποία επηρεάζουν διαφορετικούς μοριακούς στόχους και κυτταρικές διεργασίες. Ωστόσο, η λειτουργική ταξινόμηση ενός miRNA ως ογκογόνου δεν είναι πάντοτε απόλυτη, καθώς η βιολογική του επίδραση εξαρτάται από τους διαθέσιμους γονιδιακούς στόχους και το κυτταρικό και μοριακό περιβάλλον [62].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-21, ένα από τα συχνότερα μελετημένα ογκογόνα miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. Αυξημένη έκφρασή του έχει καταγραφεί σε κύτταρα και ιστούς επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών, ενώ η δράση του έχει συνδεθεί με την καταστολή ογκοκατασταλτικών γονιδίων, μεταξύ των οποίων το PTEN. Η PTEN δρα ως αρνητικός ρυθμιστής της σηματοδοτικής οδού PI3K/AKT και η μείωση της έκφρασής της ευνοεί την ενεργοποίηση σημάτων κυτταρικής επιβίωσης και πολλαπλασιασμού. Πειραματική αναστολή του miR-21 σε κύτταρα καρκίνου των ωοθηκών οδήγησε σε αύξηση της έκφρασης της PTEN, περιορισμό της ενεργοποίησης της AKT, μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ενίσχυση της απόπτωσης. Επιπλέον, στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών έχει καταγραφεί αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του miR-21 και της πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 4 (programmed cell death 4, PDCD4), υποστηρίζοντας ότι η ογκογόνο δράση του miR-21 μπορεί να ασκείται μέσω περισσότερων του ενός μοριακών στόχων [63].

Σημαντική ογκογόνο δράση έχει αποδοθεί και στο σύμπλεγμα miR-17~92, το οποίο περιλαμβάνει τα miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-19b, miR-20a και miR-92a [62]. Μεταξύ των μελών του, το miR-20a έχει μελετηθεί σε κύτταρα της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκίνου των ωοθηκών OVCAR3, όπου η αυξημένη έκφρασή του ενίσχυσε τον σχηματισμό αποικιών και τη διηθητική ικανότητα. Ως άμεσος στόχος του αναγνωρίστηκε η πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (amyloid precursor protein, APP), υποστηρίζοντας τη συμμετοχή του άξονα miR-20a/APP στην προαγωγή του κακοήθους φαινοτύπου [62], [64].

Η ογκογόνο δραστηριότητα δεν περιορίζεται, ωστόσο, αποκλειστικά στα μέλη του συμπλέγματος miR-17~92. Το miR-17~92 ανήκει σε μια ευρύτερη οικογένεια εξελικτικά συγγενών συμπλεγμάτων, στην οποία περιλαμβάνονται τα miR-106b~25 και miR-106a~363. Στον καρκίνο των ωοθηκών, επιμέρους μέλη των συμπλεγμάτων

αυτών έχουν, επίσης, συνδεθεί με την ανάπτυξη του κακοήθους φαινοτύπου. Ειδικότερα, αυξημένη έκφραση του miR-106a, μέλους του miR-106a~363, έχει παρατηρηθεί σε πρωτοπαθείς όγκους και καρκινικές κυτταρικές σειρές των ωοθηκών. Η αναστολή του περιορίσε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διήθηση, ενώ το PTEN αναγνωρίστηκε ως άμεσος στόχος του. Ωστόσο, τα συγγενικά αυτά συμπλέγματα δεν χαρακτηρίζονται συνολικά ως αποκλειστικά ογκογόνα, καθώς επιμέρους μέλη τους μπορεί να εμφανίζουν διαφορετική λειτουργική συμπεριφορά ανάλογα με το βιολογικό πλαίσιο [62].

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό ογκογόνου miRNA είναι το miR-182, του οποίου αυξημένη έκφραση έχει παρατηρηθεί σε ιστούς και κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών. Στην περίπτωση αυτή, έχει επιβεβαιωθεί η άμεση αρνητική ρύθμιση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PDCD4 μέσω αλληλεπίδρασης του miR-182 με την 3' αμετάφραστη περιοχή του αντίστοιχου mRNA. Η αύξηση της έκφρασης του miR-182 ενίσχυσε την κυτταρική ανάπτυξη, τον σχηματισμό αποικιών, τη μετανάστευση και τη διήθηση, ενώ η αναστολή του προκάλεσε αντίθετες μεταβολές. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν έναν λειτουργικό άξονα miR-182/PDCD4 που συμβάλλει στην εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών [65].

Στην ογκογόνο ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου έχουν εμπλακεί, επίσης, τα miR-221 και miR-222. Ειδικότερα, το miR-222 έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών και μπορεί να ενισχύσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω άμεσης στόχευσης του CDKN1B, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p27^{Kip1}. Ωστόσο, δεδομένα από ανθρώπινα δείγματα υποδεικνύουν πιο σύνθετη σχέση των miR-221/222 με τους ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, γεγονός που υπογραμμίζει ότι η λειτουργική τους επίδραση εξαρτάται από το βιολογικό πλαίσιο [62].

Συνολικά, τα ογκογόνα miRNAs μπορούν να προάγουν τον κακοήθη φαινότυπο μέσω της ρύθμισης διαφορετικών ογκοκατασταλτικών παραγόντων και σηματοδοτικών δικτύων. Αντίθετα, η μειωμένη έκφραση miRNAs, που φυσιολογικά περιορίζουν ογκογόνες διεργασίες, μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της ογκοκατασταλτικής τους δράσης, όπως αναλύεται στην επόμενη ενότητα.

4.3 Ογκοκατασταλτικά miRNAs

Τα ογκοκατασταλτικά miRNAs (tumor-suppressive miRNAs) αποτελούν λειτουργική κατηγορία miRNAs που περιορίζουν την ανάπτυξη και εξέλιξη του κακοήθους φαινοτύπου μέσω της αρνητικής ρύθμισης γονιδίων με ογκογόνο δράση. Η μειωμένη έκφραση ή η απώλεια της λειτουργίας τους μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκή καταστολή των γονιδίων-στόχων τους και, κατά συνέπεια, σε ενίσχυση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της επιβίωσης, της μετανάστευσης και της διήθησης των καρκινικών κυττάρων. Στον καρκίνο των ωοθηκών έχουν αναγνωριστεί αρκετά miRNAs με ογκοκατασταλτική δράση, τα οποία παρεμβαίνουν σε διαφορετικά ογκογόνα δίκτυα και σηματοδοτικές οδούς. Όπως και στην περίπτωση των ογκογόνων miRNA, η λειτουργική τους δράση εξαρτάται από τους μοριακούς στόχους και το συγκεκριμένο κυτταρικό πλαίσιο [62].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-145, το οποίο εμφανίζει μειωμένη έκφραση στον καρκίνο των ωοθηκών και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στον ορώδη καρκίνο των ωοθηκών υψηλού βαθμού κακοήθειας (HGSOC). Η αποκατάσταση της έκφρασής του περιόρισε τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διήθηση των καρκινικών κυττάρων *in vitro*, καθώς και την ανάπτυξη και τη μεταστατική διασπορά του όγκου *in vivo*. Ως άμεσος μοριακός στόχος του miR-145 αναγνωρίστηκε η μεταδερίνη (metadherin, MTDH), υποστηρίζοντας τον ογκοκατασταλτικό ρόλο του άξονα miR-145/MTDH στην εξέλιξη του HGSOC [66].

Σημαντική ογκοκατασταλτική δράση έχει, επίσης, αποδοθεί στην οικογένεια let-7. Τα μέλη της ρυθμίζουν αρνητικά ογκογόνους παράγοντες που συμμετέχουν στον πολλαπλασιασμό και την κακοήγη εξαλλαγή, μεταξύ των οποίων οι RAS, MYC και HMGA2. Ειδικά, στον καρκίνο των ωοθηκών, έχει καταγραφεί απώλεια αριθμού αντιγράφων στη γονιδιωματική περιοχή let-7a-3/let-7b, η οποία εντοπίστηκε στο 44% των δειγμάτων που αναλύθηκαν. Η απώλεια αυτή συσχετίστηκε με μειωμένη έκφραση του ώριμου let-7b. Επιπλέον, η πειραματική αποκατάσταση της έκφρασης του let-7b ανέστειλε την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών *in vitro* και περιόρισε την ανάπτυξη του όγκου *in vivo*, ενισχύοντας τα δεδομένα για τον ογκοκατασταλτικό ρόλο του let-7b [67].

Ένα νεότερα μελετημένο παράδειγμα αποτελεί το miR-337-3p, του οποίου η έκφραση βρέθηκε μειωμένη σε ιστούς επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών, ενώ τα

χαμηλότερα επίπεδά του συσχετίστηκαν με υψηλότερο παθολογικό βαθμό κακοήθειας. Η αποκατάσταση της έκφρασής του ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, προκάλεσε αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G₀/G₁ και ενίσχυσε την απόπτωση. Σε μοριακό επίπεδο, τα PIK3CA και PIK3CB, τα οποία κωδικοποιούν τις καταλυτικές υπομονάδες p110α και p110β της PI3K, αναγνωρίστηκαν ως άμεσοι στόχοι του miR-337-3p. Η καταστολή τους είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ενεργοποίησης της σηματοδοτικής οδού PI3K/AKT, ενώ η ογκοκατασταλτική δράση του miR-337-3p επιβεβαιώθηκε και in vivo [68].

Συνολικά, η μειωμένη έκφραση ογκοκατασταλτικών miRNAs μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της φυσιολογικής μετα-μεταγραφικής καταστολής ογκογόνων παραγόντων και να συμβάλει στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών. Επιλεγμένα ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά miRNAs που αναλύθηκαν στις ενότητες 4.2 και 4.3 συνοψίζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Επιλεγμένα ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. Πηγή: Προσαρμογή από [62]–[68].				
	miRNA / σύμπλεγμα	Μεταβολή έκφρασης	Κύριος μοριακός στόχος / οδός	Βιολογική επίδραση
Ογκογόνα miRNAs	miR-21	↑	PTEN / PI3K–AKT, PDCD4	Ενίσχυση πολλαπλασιασμού και επιβίωσης, περιορισμός απόπτωσης
	miR-17~92 (ιδίως miR-20a)	↑	APP (miR-20a)	Ενίσχυση ανάπτυξης και διηθητικής ικανότητας
	miR-182	↑	PDCD4	Ενίσχυση κυτταρικής ανάπτυξης, μετανάστευσης και διήθησης
Ογκοκατασταλτικά miRNAs	miR-145	↓	MTDH	Περιορισμός πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης, διήθησης και μεταστατικής ανάπτυξης
	let-7 / let-7b	↓	RAS, MYC, HMGA2	Περιορισμός ογκογόνων σημάτων και ανάπτυξης του όγκου
	miR-337-3p	↓	PIK3CA, PIK3CB / PI3K–AKT	Αναστολή πολλαπλασιασμού, αναστολή κυτταρικού κύκλου και ενίσχυση απόπτωσης

4.4 Ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του κυτταρικού κύκλου

Η διαταραχή των μηχανισμών που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της καρκινογένεσης. Στον καρκίνο των ωοθηκών, τα miRNAs μπορούν να επηρεάσουν αυτή τη διαδικασία ρυθμίζοντας την έκφραση κυκλινοεξαρτώμενων κινασών (cyclin-dependent kinases, CDKs), αναστολέων του κυτταρικού κύκλου και μεταγραφικών παραγόντων που ελέγχουν τη μετάβαση μεταξύ των επιμέρους φάσεων του. Ανάλογα με τους γονιδιακούς τους στόχους, η αυξημένη έκφραση ογκογόνων miRNAs ή, αντίθετα, η απώλεια ογκοκατασταλτικών miRNAs μπορεί να διαταράξει τους φυσιολογικούς μηχανισμούς ελέγχου και να ευνοήσει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων [69], [70].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα ογκογόνου ρύθμισης αποτελεί το miR-222, το οποίο έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα σε κυτταρικές σειρές και ιστούς επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. Η πειραματική αύξηση της έκφρασής του σε κύτταρα της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκίνου των ωοθηκών SKOV3 ενίσχυσε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αύξησε το ποσοστό των κυττάρων στη φάση S, με παράλληλη μείωση του ποσοστού στη φάση G₀/G₁. Ως άμεσος στόχος του miR-222 επιβεβαιώθηκε το CDKN1B, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p27^{Kip1}, έναν αναστολέα των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών που συμμετέχει στον έλεγχο της μετάβασης από τη φάση G₁ στη φάση S. Επιπλέον, στα δείγματα καρκίνου των ωοθηκών παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του miR-222 και της p27^{Kip1}. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι η αυξημένη έκφραση του miR-222 μπορεί να διευκολύνει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και να ενισχύσει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων μέσω της καταστολής του CDKN1B [69].

Αντίθετη επίδραση ασκεί το miR-506, το οποίο έχει ογκοκατασταλτική δράση στον καρκίνο των ωοθηκών. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η αυξημένη έκφρασή του μειώνει τη βιωσιμότητα και την ικανότητα σχηματισμού αποικιών των καρκινικών κυττάρων και προκαλεί αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G₀/G₁. Σε μοριακό επίπεδο, οι CDK4 και CDK6 επιβεβαιώθηκαν ως άμεσοι στόχοι του miR-506. Η καταστολή τους οδήγησε σε περιορισμό της σηματοδότησης CDK4/6–FOXM1, η οποία συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της κυτταρικής γήρανσης. Η λειτουργική σημασία αυτού του μηχανισμού ενισχύθηκε από την

παρατήρηση ότι η επανέκφραση των CDK4 ή CDK6 μπορούσε να αναστρέψει εν μέρει την ανασταλτική επίδραση του miR-506 στην κυτταρική ανάπτυξη [70].

Η συγκεκριμένη σχέση επιβεβαιώθηκε και πέρα από τα πειράματα σε κυτταρικές σειρές. Σε 92 ανθρώπινα δείγματα ορώδους καρκίνου των ωοθηκών, η έκφραση του miR-506 παρουσίασε αντίστροφη συσχέτιση με την έκφραση των CDK4, CDK6 και FOXM1, ενώ υψηλότερα επίπεδα miR-506 συσχετίστηκαν με χαμηλότερη έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τον άξονα miR-506/CDK4/6–FOXM1 ως χαρακτηριστικό παράδειγμα της σύνδεσης μεταξύ της ρύθμισης από miRNAs και του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου στον καρκίνο των ωοθηκών [70].

4.5 Ρύθμιση της απόπτωσης

Η απόπτωση αποτελεί βασικό μηχανισμό προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, η διαταραχή του οποίου επιτρέπει την επιβίωση κυττάρων με ογκογόνες μεταβολές και συμβάλλει στην εξέλιξη του καρκίνου. Στον καρκίνο των ωοθηκών, τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση της απόπτωσης μέσω της στόχευσης προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών παραγόντων, επηρεάζοντας την ισορροπία μεταξύ κυτταρικής επιβίωσης και θανάτου. Η μειωμένη έκφραση ογκοκατασταλτικών miRNAs μπορεί, επομένως, να ευνοήσει την αυξημένη δράση αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων [71], [72].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-137, το οποίο έχει βρεθεί σε μειωμένα επίπεδα στον καρκίνο των ωοθηκών και ρυθμίζει άμεσα την X-συνδεδεμένη πρωτεΐνη αναστολέας της απόπτωσης (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP), έναν ισχυρό αναστολέα της απόπτωσης. Πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι το miR-137 συνδέεται με την 3' αμετάφραστη περιοχή του mRNA της XIAP και μειώνει τα επίπεδα της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Η αύξηση της έκφρασης του miR-137 ενίσχυσε την απόπτωση σε κύτταρα καρκίνου των ωοθηκών, ενώ η απώλειά του είχε αντίθετη επίδραση. Επιπλέον, σε ανθρώπινους νεοπλασματικούς ιστούς παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του miR-137 και των επιπέδων της XIAP, υποστηρίζοντας τη λειτουργική σημασία της ρυθμιστικής σχέσης μεταξύ του άξονα miR-137/XIAP [71].

Στη ρύθμιση της απόπτωσης συμμετέχουν, επίσης, τα miR-15a και miR-16, τα οποία μπορούν να καταστείλουν την έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης BCL-2. Σε κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών, η αποκατάσταση της έκφρασης των miR-15a και miR-16 οδήγησε σε μείωση των επιπέδων της BCL-2, ενώ παράλληλα τα συγκεκριμένα miRNAs εμφάνισαν σημαντική ογκοκατασταλτική δράση μέσω της στόχευσης της BMI-1. Τα δεδομένα αυτά καταδεικνύουν ότι η απορρύθμιση των miRNAs μπορεί να επηρεάσει τόσο αντι-αποπτωτικούς παράγοντες όσο και ευρύτερα δίκτυα που υποστηρίζουν την επιβίωση και ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων [72].

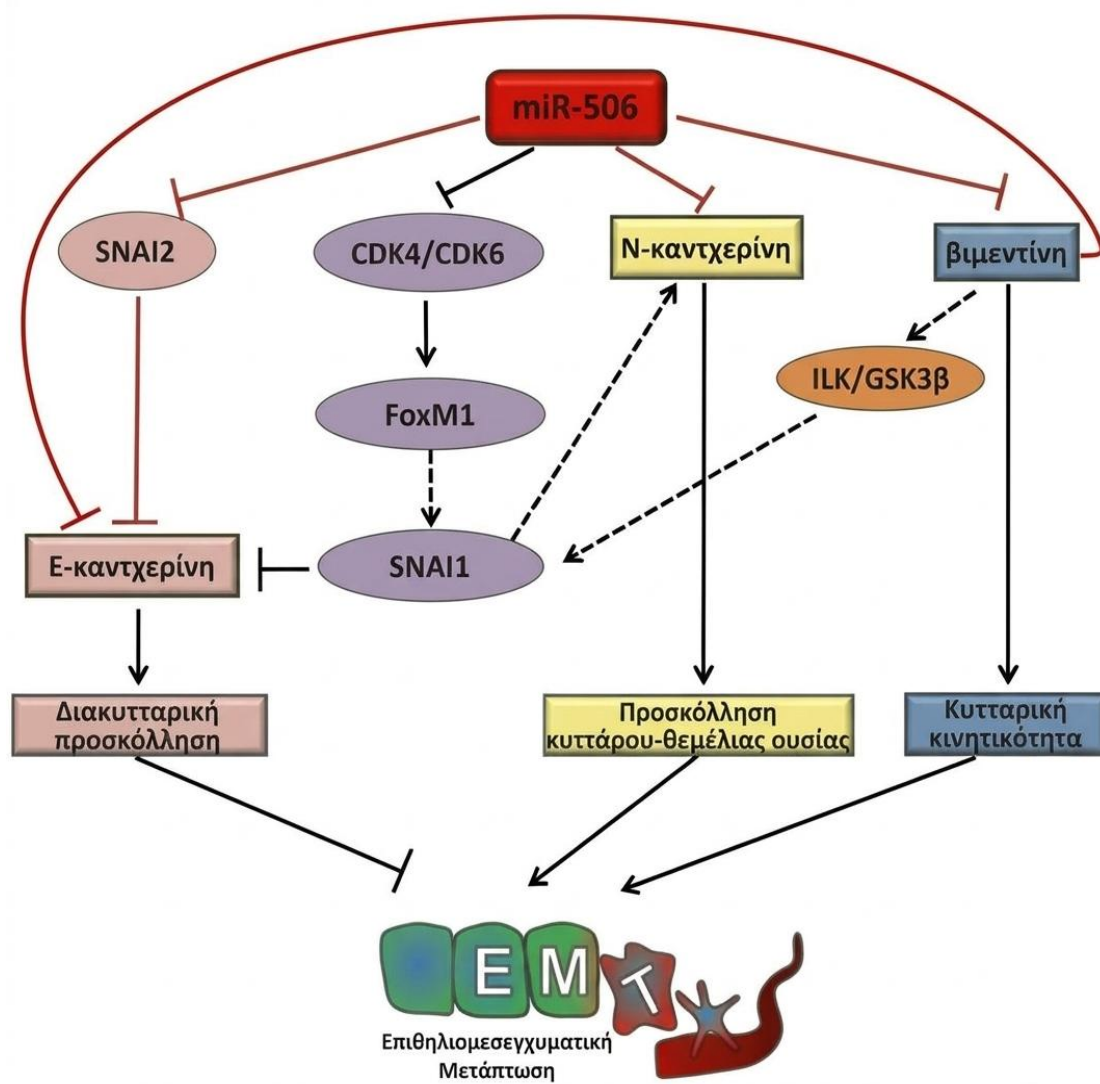
4.6 Επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση (EMT)

Η επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση (epithelial–mesenchymal transition, EMT) αποτελεί μια δυναμική κυτταρική διεργασία κατά την οποία τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν μέρος των χαρακτηριστικών της επιθηλιακής τους ταυτότητας και αποκτούν μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά. Η διαδικασία αυτή συνοδεύεται από μεταβολές στην κυτταρική προσκόλληση και στην έκφραση χαρακτηριστικών πρωτεϊνών, όπως η μείωση της E- καντχερίνη και η αύξηση μεσεγχυματικών δεικτών. Στον καρκίνο των ωοθηκών, τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση της EMT μέσω της στόχευσης μεταγραφικών παραγόντων και άλλων μορίων που καθορίζουν τον επιθηλιακό ή μεσεγχυματικό φαινότυπο [73], [74].

Κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της EMT έχει η οικογένεια miR-200, η οποία περιλαμβάνει τα miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 και miR-429. Τα μέλη της οικογένειας μπορούν να καταστείλουν τους μεταγραφικούς παράγοντες ZEB1 και ZEB2, οι οποίοι αναστέλλουν τη μεταγραφή της E- καντχερίνη και προάγουν τον μεσεγχυματικό φαινότυπο. Η αυξημένη έκφραση μελών της οικογένειας miR-200 έχει συσχετιστεί με μείωση των ZEB1/ZEB2 και διατήρηση επιθηλιακών χαρακτηριστικών, ενώ η απώλεια της δράσης τους μπορεί να ευνοήσει την EMT. Η ρυθμιστική αυτή σχέση έχει επιβεβαιωθεί και σε μοντέλα καρκίνου των ωοθηκών, υποστηρίζοντας τη συμμετοχή της οικογένειας miR-200 στον έλεγχο της επιθηλιακής ταυτότητας των καρκινικών κυττάρων [73].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει, επίσης, το miR-506, το οποίο δρα ως αναστολέας της EMT στον καρκίνο των ωοθηκών, όπως φαίνεται στην Εικόνα 7. Το miR-506 στοχεύει άμεσα τον μεταγραφικό καταστολέα SNAIL2, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης της E-καντχερίνη και την αναστολή της επιθηλιομεσεγχυματικής

μετάπτωσης που επάγεται από τον TGF- β . Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει άμεσα τη βιμεντίνη (vimentin) και τη Ν- καντχερίνη, δύο πρωτεΐνες που συνδέονται με τον μεσεγχυματικό φαινότυπο. Σε δείγματα επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών, υψηλότερη έκφραση του miR-506 συσχετίστηκε με υψηλότερα επίπεδα Ε- καντχερίνη και χαμηλότερα επίπεδα SNAI2, βιμεντίνης και Ν- καντχερίνη. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι το miR-506 μπορεί να περιορίζει την EMT μέσω ταυτόχρονης ρύθμισης πολλαπλών συστατικών του σχετικού μοριακού δικτύου [74].



Εικόνα 7: Μοριακός μηχανισμός μέσω του οποίου το miR-506 αναστέλλει την επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση (EMT) στον καρκίνο των ωοθηκών [74].

4.7 Διήθηση, κυτταρική κινητικότητα και διαπεριτοναϊκή μεταστατική διασπορά

Η μεταστατική εξάπλωση του καρκίνου των ωοθηκών παρουσιάζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, καθώς πραγματοποιείται συχνά μέσω της περιτοναϊκής κοιλότητας. Καρκινικά κύτταρα μπορούν να αποκολληθούν από τον πρωτοπαθή όγκο, να μεταφερθούν μέσω του περιτοναϊκού ή ασκитικού υγρού και να επιβιώσουν ως μεμονωμένα κύτταρα ή πολυκυτταρικά σφαιροειδή. Στη συνέχεια, τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να προσκολληθούν στις επιφάνειες της περιτοναϊκής κοιλότητας, ιδιαίτερα, στο περιτόναιο και το μείζον επίπλουν, να διηθήσουν τους υποκείμενους ιστούς και να σχηματίσουν μεταστατικές εστίες. Τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση της διαπεριτοναϊκής μεταστατικής διασποράς του καρκίνου των ωοθηκών, επηρεάζοντας διαφορετικά στάδια της διαδικασίας [75].

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-145, του οποίου η μειωμένη έκφραση έχει ήδη αναφερθεί στον ορώδη καρκίνο των ωοθηκών υψηλού βαθμού κακοήθειας. Η αποκατάσταση της έκφρασής του περιόρισε σημαντικά τη μετανάστευση και τη διηθητική ικανότητα καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών. Παράλληλα, προκάλεσε αύξηση της E-καντχερίνη και μείωση μεσεγγυματικών δεικτών, ενώ η μεταδερίνη (MTDH) αναγνωρίστηκε ως άμεσος μοριακός στόχος του miR-145. Η επανέκφραση της MTDH ανέστρεψε εν μέρει την κατασταλτική επίδραση του miR-145 στη μετανάστευση και τη διήθηση, ενισχύοντας τη λειτουργική σύνδεση μεταξύ των δύο μορίων [66].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη διαπεριτοναϊκή διασπορά παρουσιάζει, επίσης, το miR-181a. Η αυξημένη έκφρασή του έχει συνδεθεί με ενίσχυση της κινητικότητας και της διηθητικής ικανότητας των καρκινικών κυττάρων, παράλληλα με μεταβολές που σχετίζονται με την EMT. Σε πειραματικό μοντέλο ενδοπεριτοναϊκής εμφύτευσης, κύτταρα με αυξημένη έκφραση του miR-181a σχημάτισαν πολλαπλές εστίες διασποράς στην περιτοναϊκή κοιλότητα, κυρίως, στο μείζον επίπλουν και το περιτόναιο, ενώ παρατηρήθηκαν εστίες και στο διάφραγμα. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν τη συμμετοχή του miR-181a όχι μόνο στην απόκτηση διηθητικού φαινοτύπου, αλλά και στη διαπεριτοναϊκή μεταστατική εξάπλωση του καρκίνου των ωοθηκών [76].

4.8 Ρύθμιση της αγγειογένεσης

Η αγγειογένεση, δηλαδή ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων από προϋπάρχοντα αγγεία, αποτελεί σημαντική διαδικασία για την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών, καθώς εξασφαλίζει την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στον αναπτυσσόμενο όγκο. Κεντρικό ρόλο στη διαδικασία αυτή διαδραματίζει ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), η έκφραση του οποίου επηρεάζεται από το υποξικό μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα miRNAs μπορούν να επηρεάσουν την αγγειογένεση μέσω της ρύθμισης παραγόντων που συμμετέχουν στον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων [77].

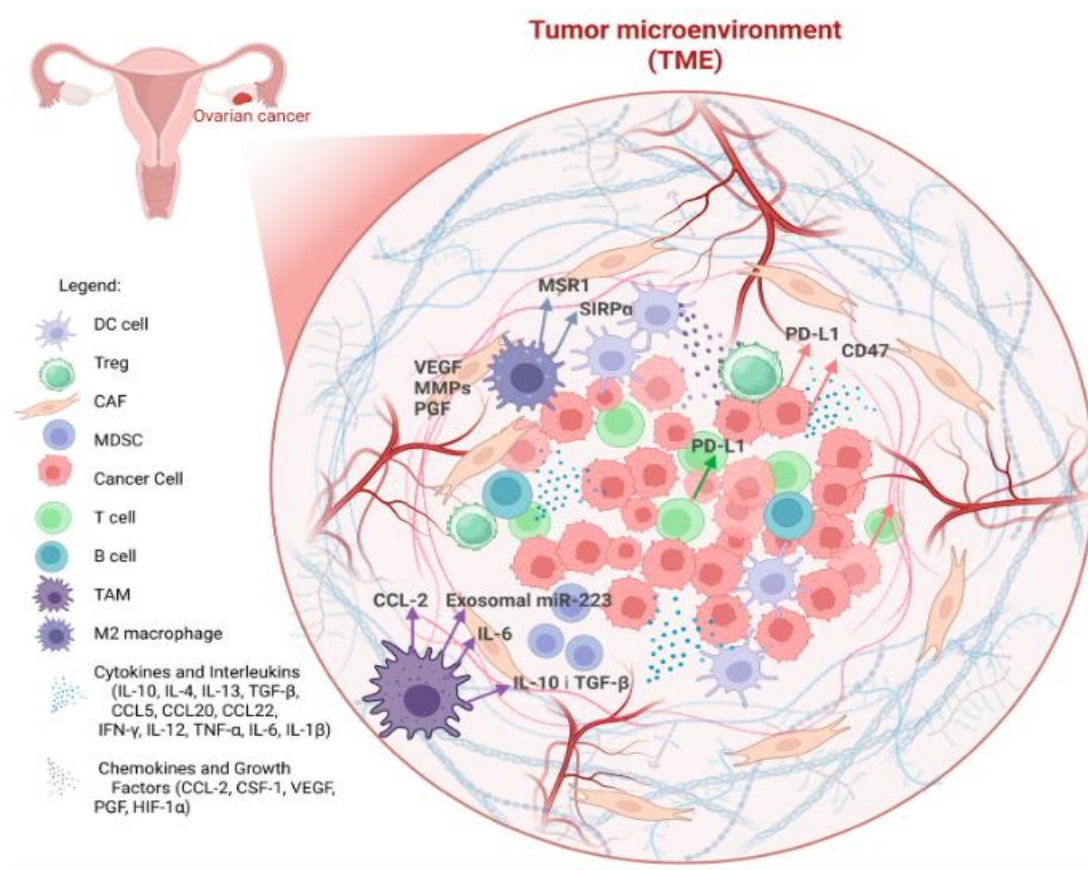
Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα miR-199a και miR-125b, τα οποία έχουν βρεθεί σε μειωμένα επίπεδα σε ιστούς και κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών. Η πειραματική αύξηση της έκφρασής τους περιόρισε την αγγειογενετική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων και συνοδεύτηκε από μείωση της έκφρασης του επαγόμενου από την υποξία παράγοντα 1α (hypoxia-inducible factor 1α, HIF-1α) και του VEGF. Η δράση αυτή συνδέθηκε με την καταστολή της σηματοδοτικής οδού Akt/p70S6K1/HIF-1α/VEGF, ενώ σε ανθρώπινα δείγματα καρκίνου των ωοθηκών παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των miR-199a και miR-125b και της έκφρασης του VEGF [77].

Στη ρύθμιση της αγγειογένεσης συμμετέχει, επίσης, η οικογένεια miR-200. Σε πειραματικά μοντέλα καρκίνου των ωοθηκών, μέλη της οικογένειας miR-200 περιόρισαν την αγγειογένεση μέσω της ρύθμισης κυτταροκινών που προάγουν την αγγειογένεση, κυρίως, της ιντερλευκίνης-8 (interleukin-8, IL-8) και της χημειοκίνης CXCL1 (C-X-C motif chemokine ligand 1). Η αύξηση της έκφρασης των miR-200a και miR-200b συσχετίστηκε με μείωση της αγγείωσης του όγκου και περιορισμό της μεταστατικής ανάπτυξης, αναδεικνύοντας έναν επιπλέον μηχανισμό μέσω του οποίου τα miRNAs μπορούν να επηρεάσουν την εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών [78].

4.9 Αλληλεπιδράσεις με το μικροπεριβάλλον του όγκου

Το μικροπεριβάλλον του όγκου (TME) αποτελεί ένα σύνθετο δίκτυο κυτταρικών και μη κυτταρικών συστατικών που αλληλεπιδρούν με τα καρκινικά κύτταρα και επηρεάζουν την εξέλιξη της νόσου. Στον καρκίνο των ωοθηκών περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (cancer-associated fibroblasts,

CAFs), ανοσοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Τα miRNAs συμμετέχουν στην επικοινωνία μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των κυττάρων του στρώματος και μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών του μικροπεριβάλλοντος του όγκου [79]. Τα κυριότερα κυτταρικά συστατικά και οι αλληλεπιδράσεις που διαμορφώνουν το μικροπεριβάλλον του καρκίνου των ωοθηκών παρουσιάζονται σχηματικά στην Εικόνα 8.



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση του μικροπεριβάλλοντος του καρκίνου των ωοθηκών και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυτταρικών συστατικών του. Πηγή: Górczak και Kiraga, 2025 [80].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ρύθμιση των CAFs. Σε ινοβλάστες που απομονώθηκαν από ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών, τα miR-31 και miR-214 παρουσίασαν μειωμένη έκφραση, ενώ το miR-155 αυξημένη έκφραση σε σύγκριση με φυσιολογικούς ινοβλάστες. Η πειραματική αναπαραγωγή αυτού του προτύπου ήταν επαρκής για τη μετατροπή φυσιολογικών ινοβλαστών σε κύτταρα με χαρακτηριστικά CAFs, τα οποία ενίσχυναν την ανάπτυξη, τη μετανάστευση και τη διηθητική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, η χημειοκίνη CCL5 αναγνωρίστηκε ως άμεσος

στόχος του miR-214, υποδεικνύοντας ότι η απορρύθμιση των miRNAs στα κύτταρα του στρώματος μπορεί να συμβάλει στη δημιουργία ενός μικροπεριβάλλοντος που ευνοεί την εξέλιξη του όγκου [81].

Τα miRNAs μπορούν, επίσης, να επηρεάσουν τη λειτουργία των ανοσοκυττάρων του μικροπεριβάλλοντος. Στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών, το miR-222-3p βρέθηκε εμπλουτισμένο σε εξωσώματα που απελευθερώνονται από καρκινικά κύτταρα και μπορεί να μεταφερθεί σε μακροφάγα. Η μεταφορά του προήγαγε την πόλωση των μακροφάγων προς έναν φαινότυπο τύπου M2, μέσω άμεσης καταστολής του καταστολέα της σηματοδότησης κυτταροκινών 3 (suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3) και της επακόλουθης ενεργοποίησης του μεταγωγέα σήματος και ενεργοποιητή της μεταγραφής 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3). Τα μακροφάγα αυτού του τύπου συνδέονται με τη δημιουργία ενός μικροπεριβάλλοντος που ευνοεί την εξέλιξη του όγκου, αναδεικνύοντας έναν ακόμη μηχανισμό μέσω του οποίου τα miRNAs μεσολαβούν στην επικοινωνία μεταξύ καρκινικών και στρωματικών κυττάρων [82].

Κεφάλαιο 5^ο: miRNAs ως βιοδείκτες στον καρκίνο των ωοθηκών

5.1 Κλινική σημασία των miRNAs ως βιοδεικτών

Η αναζήτηση αξιόπιστων βιοδεικτών αποτελεί σημαντικό πεδίο έρευνας στον καρκίνο των ωοθηκών, ιδιαίτερα, λόγω της συχνής διάγνωσης της νόσου σε προχωρημένα στάδια και των περιορισμών που παρουσιάζουν οι διαθέσιμοι βιοδείκτες ως προς την έγκαιρη και ακριβή ανίχνευσή της [42]. Στο πλαίσιο αυτό, τα miRNAs έχουν αναδειχθεί ως υποσχόμενοι μοριακοί βιοδείκτες, καθώς μεταβολές στα επίπεδα έκφρασής τους έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο των ωοθηκών και την εξέλιξη της νόσου [62].

Η έκφραση των miRNAs μπορεί να μελετηθεί τόσο σε ιστικά όσο και σε υγρά βιολογικά δείγματα, παρέχοντας πληροφορίες που ενδέχεται να έχουν κλινική σημασία. Ειδικότερα, διαφορετικά πρότυπα έκφρασης miRNAs έχουν συσχετιστεί με χαρακτηριστικά της νόσου και με την κλινική έκβαση των ασθενών, γεγονός που έχει ενισχύσει το ενδιαφέρον για τη διερεύνησή τους ως διαγνωστικών και προγνωστικών βιοδεικτών [58]. Παράλληλα, η δυνατότητα αξιολόγησης περισσότερων του ενός miRNAs σε συνδυαστικά πάνελ αποτελεί μία επιπλέον προσέγγιση που διερευνάται με στόχο τη βελτίωση της κλινικής τους χρησιμότητας.

Παρά τα ενθαρρυντικά ερευνητικά δεδομένα, τα miRNAs δεν έχουν ακόμη καθιερωθεί ως βιοδείκτες στην καθημερινή κλινική πρακτική του καρκίνου των ωοθηκών. Η αξιολόγηση της πραγματικής διαγνωστικής και προγνωστικής τους αξίας, καθώς και η σύγκριση ή ο συνδυασμός τους με καθιερωμένους βιοδείκτες, αποτελούν βασικά αντικείμενα της σύγχρονης έρευνας και αναλύονται στις επόμενες ενότητες.

5.2 Διαγνωστική αξία των miRNAs

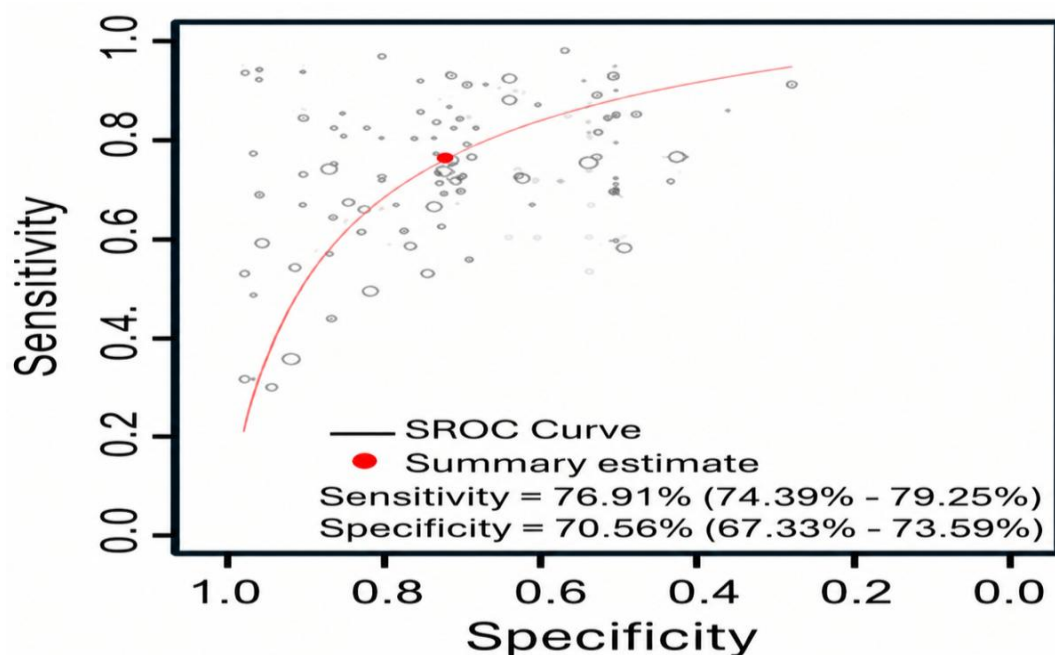
Μία από τις σημαντικότερες δυνητικές κλινικές εφαρμογές των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών αφορά τη χρήση τους ως διαγνωστικών βιοδεικτών. Το ενδιαφέρον επικεντρώνεται, ιδιαίτερα, στη δυνατότητά τους να συμβάλουν στην έγκαιρη και ακριβέστερη ανίχνευση της νόσου, δεδομένου ότι η διάγνωση σε πρώιμο στάδιο εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική κλινική πρόκληση [42]. Σήμερα, το καρκινικό αντιγόνο 125 (CA-125) και η ανθρώπινη επιδιδυμική πρωτεΐνη 4 (HE4) αποτελούν τους κυριότερους ορολογικούς βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στην κλινική αξιολόγηση του καρκίνου των ωοθηκών. Ωστόσο, κανένας από τους δύο δεν διαθέτει

επαρκή διαγνωστική ακρίβεια ώστε να χρησιμοποιείται ως αυτόνομο εργαλείο για την πρόωπη ανίχνευση της νόσου, γεγονός που έχει ενισχύσει την αναζήτηση νέων μοριακών βιοδεικτών, μεταξύ των οποίων τα miRNAs κατέχουν ιδιαίτερη θέση [42], [84].

Στο πλαίσιο αυτό, σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα κυκλοφορούντα miRNAs, τα οποία μπορούν να ανιχνευθούν σε βιολογικά υγρά, κυρίως, στον ορό και στο πλάσμα. Η σχετική σταθερότητά τους στην κυκλοφορία και η δυνατότητα ανίχνευσής τους με μοριακές τεχνικές ενισχύουν την προοπτική αξιοποίησής τους στο πλαίσιο της υγρής βιοψίας, ως μιας ελάχιστα επεμβατικής προσέγγισης για την ανίχνευση της νόσου. Η διαγνωστική τους αξία βασίζεται στο γεγονός ότι τα επίπεδα ορισμένων κυκλοφορούντων miRNAs διαφέρουν μεταξύ ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών και ατόμων χωρίς τη νόσο [53].

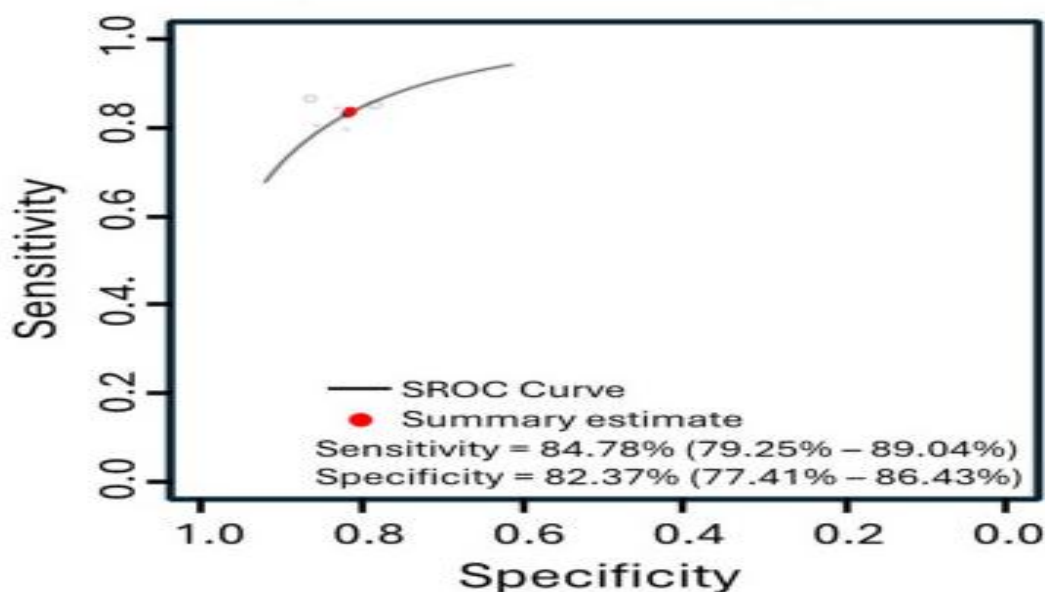
Συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση του 2023 ανέδειξε σειρά κυκλοφορούντων miRNAs με αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών. Μεταξύ αυτών, ξεχωρίζουν μέλη της οικογένειας miR-200, όπως τα miR-200a, miR-200b και miR-200c, καθώς και το miR-141, τα οποία έχουν επανειλημμένα αξιολογηθεί ως πιθανοί διαγνωστικοί δείκτες. Ωστόσο, η ίδια ανάλυση ανέδειξε σημαντική ετερογένεια μεταξύ των επιμέρους μελετών και υπογράμμισε την ανάγκη επιβεβαίωσης των αποτελεσμάτων σε μεγαλύτερους και κατάλληλα σχεδιασμένους πληθυσμούς [84].

Νεότερη μετα-ανάλυση του 2024, η οποία συμπεριέλαβε 50 δημοσιεύσεις, 209 επιμέρους μελέτες και, συνολικά, 11.158 συμμετέχοντες, ανέδειξε περαιτέρω τη διαγνωστική δυναμική των κυκλοφορούντων miRNAs. Τα μεμονωμένα miRNAs εμφάνισαν συνολική ευαισθησία 76,91% και ειδικότητα 70,56%, όπως φαίνεται στην Εικόνα 9. Μεταξύ των συχνότερα μελετημένων miRNAs, τα miR-200c, miR-1246, miR-141, miR-200b, miR-200a και miR-429 εμφάνισαν ευαισθησία και ειδικότητα άνω του 70%, υποστηρίζοντας την πιθανή αξιοποίησή τους στη διαγνωστική προσέγγιση της νόσου [83].



Εικόνα 9: Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των μεμονωμένων miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. [83]

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η πιθανή συμβολή των miRNAs στην ανίχνευση του καρκίνου των ωοθηκών σε πρώιμο στάδιο (στάδιο I και στάδιο II). Στην ίδια μετα-ανάλυση, τα miR-141, miR-320b, miR-223 και miR-200c ήταν μεταξύ των συχνότερα χρησιμοποιούμενων miRNAs για την αναγνώριση πρώιμου σταδίου της νόσου, με συνολική ευαισθησία 84,78% και ειδικότητα 82,37%, όπως φαίνεται στην Εικόνα 10 [83].



Εικόνα 10: Διάγραμμα SROC για πιθανή συμβολή των miRNAs στην ανίχνευση του καρκίνου των ωοθηκών στο στάδιο I και στάδιο II [83]

Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν το ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των κυκλοφορούντων miRNAs ως διαγνωστικών βιοδεικτών, τόσο μεμονωμένα όσο και σε συνδυασμό. Ωστόσο, η ετερογένεια μεταξύ των διαθέσιμων μελετών και οι διαφορές στις χρησιμοποιούμενες μεθοδολογικές προσεγγίσεις αποτελούν σημαντικά εμπόδια για την καθιέρωσή τους ως αυτόνομων διαγνωστικών εξετάσεων στην κλινική πράξη [53], [84].

5.3 Προγνωστική αξία των miRNAs

Εκτός από τη διαγνωστική τους χρησιμότητα, τα miRNAs διερευνώνται και ως πιθανοί προγνωστικοί βιοδείκτες στον καρκίνο των ωοθηκών. Μεταβολές στα επίπεδα έκφρασής τους έχουν συσχετιστεί με την κλινική πορεία και την έκβαση της νόσου, γεγονός που υποδηλώνει ότι ορισμένα miRNAs ή πρότυπα έκφρασής τους θα μπορούσαν να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση των ασθενών. Η προγνωστική τους αξία έχει αξιολογηθεί, κυρίως, σε σχέση με τη συνολική επιβίωση (overall survival, OS) και την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (progression-free survival, PFS) [58], [85].

Πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση, η οποία συμπεριέλαβε 51 μελέτες και, συνολικά, 6.916 ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών, αξιολόγησε τη σχέση 181 διαφορετικών miRNAs με την πρόγνωση και την επιβίωση των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών. Μεταξύ των οικογενειών miRNAs που μελετήθηκαν, ιδιαίτερα σημαντικά αποτελέσματα καταγράφηκαν για την οικογένεια miR-200. Η αυξημένη έκφρασή της συσχετίστηκε με καλύτερη συνολική επιβίωση (Hazard Ratio, HR=0,66, 95%CI: 0,53–0,80) και καλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (HR=0,68, 95% CI: 0,47–0,89). Σε επίπεδο μεμονωμένων μελών της οικογένειας, υπερέκφραση των miR-200a και miR-200c συσχετίστηκε με καλύτερη συνολική επιβίωση, ενώ αυξημένη έκφραση του miR-141 συνδέθηκε με καλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου [85].

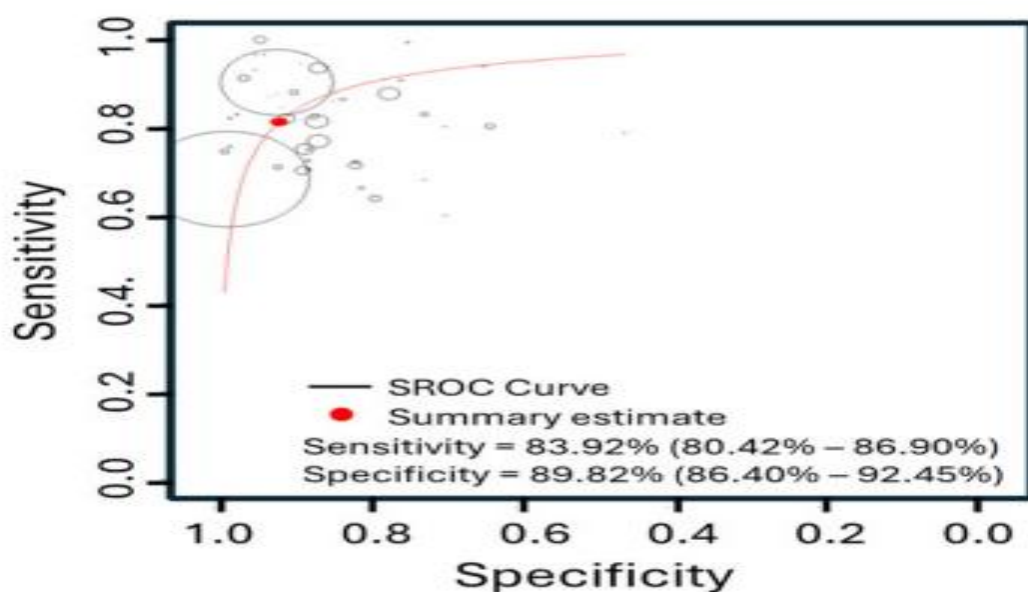
Προγνωστικό ενδιαφέρον παρουσιάζει, επίσης, η οικογένεια miR-30. Η αυξημένη έκφρασή της συσχετίστηκε με καλύτερη συνολική επιβίωση και επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των επιμέρους μελετών περιορίζουν τη δυνατότητα εξαγωγής οριστικών συμπερασμάτων και υπογραμμίζουν την ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης της προγνωστικής της αξίας. Τα δεδομένα αυτά αναδεικνύουν τη δυνατότητα αξιοποίησης συγκεκριμένων miRNAs ή προτύπων

έκφρασής τους για την εκτίμηση της πρόγνωσης των ασθενών. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των μελετών ως προς τον πληθυσμό, τον ιστολογικό τύπο, το είδος του βιολογικού δείγματος και τις μεθόδους προσδιορισμού της έκφρασης περιορίζουν προς το παρόν την άμεση εφαρμογή τους ως καθιερωμένους προγνωστικούς βιοδείκτες [85].

5.4 Συνδυαστικά πάνελ miRNAs και συμβατικοί βιοδείκτες

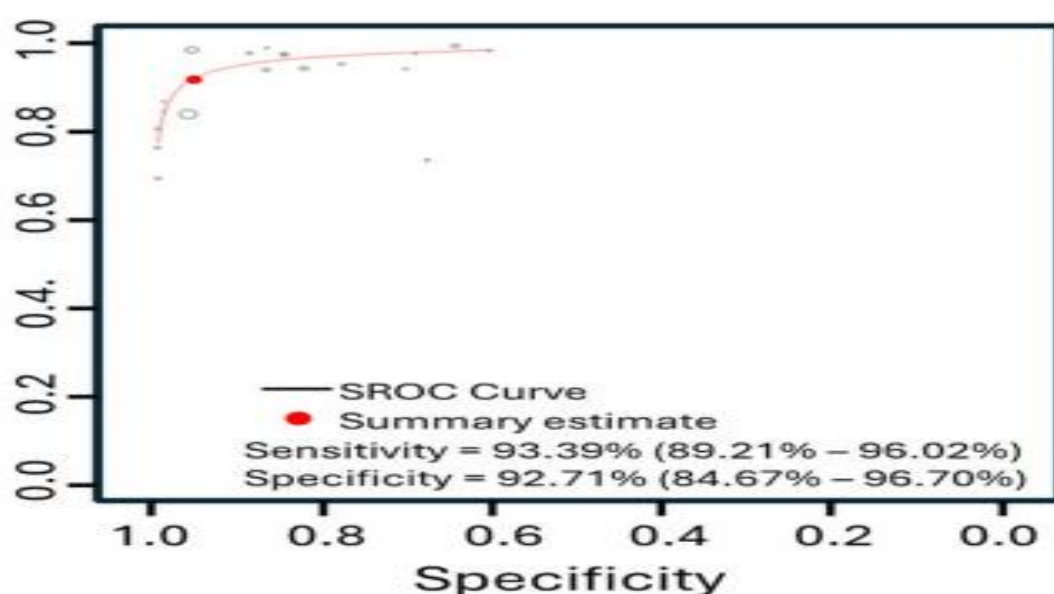
Παρότι μεμονωμένα miRNAs έχουν παρουσιάσει αξιολογήσιμη διαγνωστική αξία στον καρκίνο των ωοθηκών, η αξιολόγηση περισσότερων miRNAs σε συνδυαστικά πάνελ φαίνεται να αποτελεί μια πιο ολοκληρωμένη προσέγγιση. Η ταυτόχρονη ανάλυση πολλαπλών miRNAs μπορεί να βελτιώσει τη διαγνωστική ακρίβεια, καθώς επιτρέπει την αξιοποίηση ενός ευρύτερου προτύπου μοριακών μεταβολών που σχετίζονται με τη νόσο [83].

Η χρησιμότητα της προσέγγισης αυτής υποστηρίζεται από πρόσφατα συγκεντρωτικά δεδομένα. Σε μετα-ανάλυση του 2024, τα πάνελ κυκλοφορούντων miRNAs παρουσίασαν συνολική ευαισθησία 83,92% και ειδικότητα 89,82%, όπως φαίνεται στην Εικόνα 11, εμφανίζοντας καλύτερη διαγνωστική απόδοση σε σχέση με τα μεμονωμένα miRNAs, για τα οποία οι αντίστοιχες τιμές ήταν 76,91% και 70,56% [83]. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η συνδυαστική αξιολόγηση πολλαπλών miRNAs μπορεί να ενισχύσει τη δυνατότητα διάκρισης των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών.



Εικόνα 11: Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των πάνελ miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών [83]

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο συνδυασμός των πάνελ miRNAs με καθιερωμένους ορολογικούς βιοδείκτες, κυρίως, τον CA-125 και την HE4. Στην ίδια μετα-ανάλυση, ο συνδυασμός πάνελ miRNAs με CA-125 και HE4 παρουσίασε συνολική ευαισθησία 93,39% και ειδικότητα 92,71%, όπως φαίνεται στην Εικόνα 12, επιτυγχάνοντας υψηλότερη διαγνωστική απόδοση σε σύγκριση με τα πάνελ miRNAs χωρίς την προσθήκη των συμβατικών βιοδεικτών [83]. Παρόμοια, συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση του 2023 έδειξε ότι στις μελέτες που αξιολόγησαν τον συνδυασμό κυκλοφορούντων miRNAs με τον CA-125, η συνδυαστική προσέγγιση παρουσίαζε γενικά καλύτερη διαγνωστική απόδοση από κάθε δείκτη μεμονωμένα [84].



Εικόνα 12: Διάγραμμα SROC για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας του συνδυασμού πάνελ miRNAs με CA-125 και HE4 [83]

Ενδεικτικό παράδειγμα αποτελεί πάνελ επτά κυκλοφορούντων miRNAs, αποτελούμενο από τα miR-92a, miR-200c, miR-320b, miR-320c, miR-335, miR-375 και miR-486. Το συγκεκριμένο πάνελ εμφάνισε εμβადόν κάτω από την καμπύλη ROC (Area Under the Curve, AUC) 0,87 για τη διάκριση των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών από υγιή άτομα, ενώ για την ανίχνευση της νόσου σε πρώιμο στάδιο η AUC ήταν 0,81. Ο συνδυασμός του πάνελ με τον CA-125 βελτίωσε περαιτέρω τη διαγνωστική απόδοση στην πρώιμη νόσο, αυξάνοντας την AUC σε 0,93 [86].

Συνολικά, τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η κλινική αξιοποίηση των miRNAs ενδέχεται να είναι αποτελεσματικότερη όταν αυτά αξιολογούνται σε πάνελ και σε συνδυασμό με καθιερωμένους βιοδείκτες, παρά όταν χρησιμοποιούνται

μεμονωμένα. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω επικύρωση των προτεινόμενων συνδυασμών σε μεγάλους και ανεξάρτητους πληθυσμούς πριν από την εφαρμογή τους στην καθημερινή κλινική πράξη [83],[86].

5.5 Περιορισμοί και προοπτικές κλινικής εφαρμογής

Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα σχετικά με τη διαγνωστική και προγνωστική αξία των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών, η εφαρμογή τους στην καθημερινή κλινική πράξη εξακολουθεί να παρουσιάζει σημαντικούς περιορισμούς. Ένα από τα κυριότερα προβλήματα είναι η έλλειψη τυποποιημένων πρωτοκόλλων για τη συλλογή και την επεξεργασία των βιολογικών δειγμάτων, την απομόνωση των miRNAs και τον προσδιορισμό των επιπέδων έκφρασής τους. Παράγοντες, όπως το είδος του δείγματος, οι συνθήκες συλλογής και αποθήκευσης, καθώς και οι μέθοδοι απομόνωσης και ποσοτικοποίησης, μπορούν να επηρεάσουν τα τελικά αποτελέσματα και να δυσχεράνουν τη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών μελετών [53].

Επιπλέον, σημαντική ετερογένεια παρατηρείται ως προς τα χαρακτηριστικά των ασθενών και της νόσου, όπως το στάδιο και ο ιστολογικός τύπος, αλλά και ως προς τα miRNAs ή τα πάνελ που αξιολογούνται. Ως αποτέλεσμα, τα ευρήματα μιας μελέτης δεν επιβεβαιώνονται πάντοτε με την ίδια συνέπεια σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Παράλληλα, αρκετές από τις διαθέσιμες μελέτες περιλαμβάνουν σχετικά περιορισμένο αριθμό ασθενών, γεγονός που καθιστά απαραίτητη την επικύρωση των προτεινόμενων βιοδεικτών σε μεγαλύτερες και ανεξάρτητες ομάδες ασθενών [83], [84].

Παρά τους παραπάνω περιορισμούς, τα miRNAs εξακολουθούν να παρουσιάζουν σημαντικές προοπτικές για την ανάπτυξη νέων βιοδεικτών στον καρκίνο των ωοθηκών. Ιδιαίτερα, η αξιολόγηση κυκλοφορούντων miRNAs μέσω ελάχιστα επεμβατικών δειγμάτων, καθώς και η χρήση πάνελ miRNAs σε συνδυασμό με καθιερωμένους βιοδείκτες, όπως ο CA-125 και η HE4, αποτελούν υποσχόμενες προσεγγίσεις [53],[83]. Η αντιμετώπιση των παραπάνω περιορισμών θα μπορούσε να ενισχύσει την αξιοπιστία των miRNAs ως βιοδεικτών και να διευκολύνει τη σταδιακή αξιοποίησή τους στην κλινική διαχείριση των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών.

Κεφάλαιο 6^ο: miRNAs στη θεραπευτική ανταπόκριση και ως θεραπευτικοί στόχοι στον καρκίνο των ωοθηκών

6.1 miRNAs και θεραπευτική ανταπόκριση

Η θεραπευτική ανταπόκριση αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την κλινική πορεία των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών. Παρότι η αρχική ανταπόκριση στη συστηματική θεραπεία είναι συχνά ικανοποιητική, η ανάπτυξη θεραπευτικής αντοχής αποτελεί σημαντικό εμπόδιο για τη μακροχρόνια αποτελεσματικότητα της θεραπείας και συνδέεται με την υποτροπή της νόσου [87].

Τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση πολλών κυτταρικών διεργασιών που μπορούν να επηρεάσουν την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στις αντικαρκινικές θεραπείες. Μεταβολές στην έκφρασή τους έχουν συσχετιστεί με διαφορετική θεραπευτική ανταπόκριση, μέσω της επίδρασής τους σε μηχανισμούς όπως η απόπτωση, η επιδιόρθωση βλαβών του DNA, η μεταφορά φαρμάκων και η ενεργοποίηση ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών. Ανάλογα με τα γονίδια και τα μονοπάτια που ρυθμίζουν, συγκεκριμένα miRNAs μπορούν να συμβάλουν είτε στην ανάπτυξη αντοχής είτε στην αποκατάσταση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία [87].

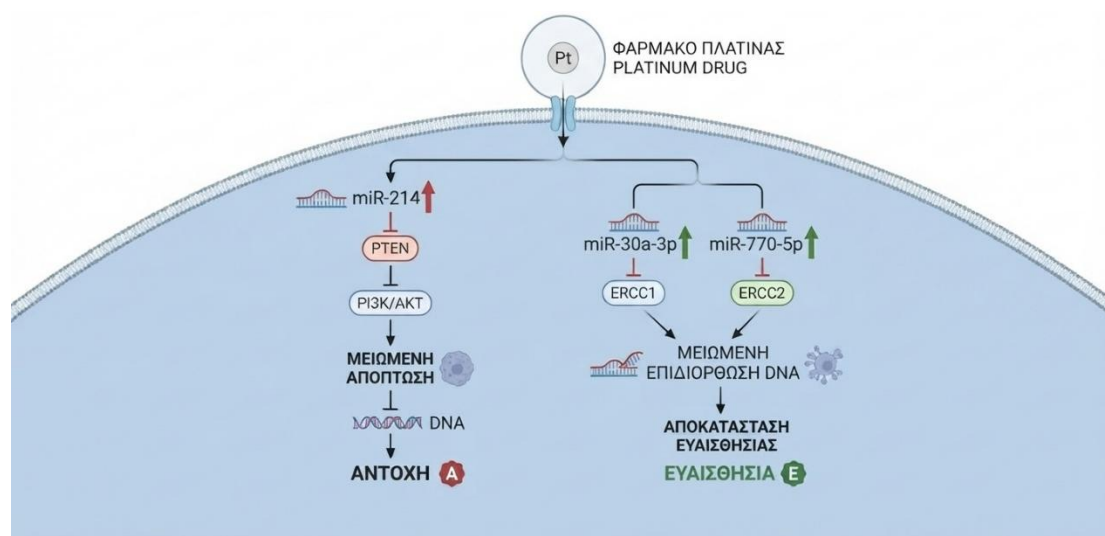
Η σχέση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία στον καρκίνο των ωοθηκών, καθώς διαφορετικά πρότυπα έκφρασης miRNAs έχουν συσχετιστεί με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα και τις ταξάνες, αλλά και με την απόκριση σε νεότερες στοχευμένες θεραπείες [87]. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν τη διερεύνηση των miRNAs τόσο ως πιθανών δεικτών πρόβλεψης της θεραπευτικής ανταπόκρισης όσο και ως μοριακών στόχων για την αντιμετώπιση της θεραπευτικής αντοχής. Οι επιμέρους αυτές εφαρμογές αναλύονται στις επόμενες ενότητες.

6.2 miRNAs και αντοχή στη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα

Η χημειοθεραπεία με παράγοντες πλατίνα, κυρίως, καρβοπλατίνη και σισπλατίνη αποτελεί βασικό συστατικό της συστηματικής θεραπείας του καρκίνου των ωοθηκών. Ωστόσο, η ανάπτυξη αντοχής στους παράγοντες πλατίνας αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που περιορίζουν τη μακροχρόνια αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση της ευαισθησίας των καρκινικών

κυττάρων στην πλατίνα, επηρεάζοντας μηχανισμούς όπως η απόπτωση, η επιδιόρθωση των βλαβών του DNA και ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια [87], [88], [89].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-214, η αυξημένη έκφραση του οποίου έχει συσχετιστεί με αντοχή στη σισπλατίνη. Το miR-214 καταστέλλει την έκφραση του ογκοκατασταλτικού PTEN, με επακόλουθη ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/AKT, όπως φαίνεται στην Εικόνα 13. Η μεταβολή αυτή ευνοεί την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων και περιορίζει την επαγόμενη από τη σισπλατίνη απόπτωση, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη ανθεκτικού φαινοτύπου [89].



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών αντοχής και ευαισθησίας στα φάρμακα πλατίνας (όπως η σισπλατίνη) στα καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών. Πηγή: Προσαρμογή από BioRender

Σημαντικός είναι, επίσης, ο ρόλος miRNAs που επηρεάζουν τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Το miR-30a-3p στοχεύει το ERCC1, βασικό παράγοντα της επιδιόρθωσης μέσω εκτομής νουκλεοτιδίων, και η αυξημένη έκφρασή του έχει συσχετιστεί με αποκατάσταση της ευαισθησίας στη σισπλατίνη. Αντίστοιχα, η αυξημένη έκφραση του miR-770-5p μπορεί να αποκαταστήσει την ευαισθησία στη σισπλατίνη μέσω άμεσης στόχευσης του ERCC2, όπως φαίνεται στην εικόνα 13, ενώ μειωμένα επίπεδά του έχουν παρατηρηθεί σε ανθεκτικές στη σισπλατίνη κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, το miR-211 έχει συσχετιστεί με αυξημένη ευαισθησία στην πλατίνα μέσω της ρύθμισης γονιδίων που συμμετέχουν στην απόκριση στις βλάβες του DNA [88].

Συνεπώς, η επίδραση των miRNAs στην αντοχή στην πλατίνα δεν περιορίζεται σε έναν μοναδικό μηχανισμό, αλλά περιλαμβάνει τη ρύθμιση διαφορετικών μοριακών

οδών που καθορίζουν την επιβίωση και την ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA των καρκινικών κυττάρων. Η καλύτερη κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων μπορεί να συμβάλει στην αναγνώριση νέων δεικτών θεραπευτικής ανταπόκρισης και πιθανών μοριακών στόχων για την αντιμετώπιση της αντοχής στην πλατίνα [88], [89].

6.3 miRNAs και αντοχή στις ταξάνες

Οι ταξάνες, με κύριο εκπρόσωπο την πακλιταξέλη, αποτελούν βασικό μέρος της χημειοθεραπείας του καρκίνου των ωοθηκών, συνήθως, σε συνδυασμό με παράγοντες πλατίνας. Ωστόσο, η ανάπτυξη αντοχής στην πακλιταξέλη μπορεί να περιορίσει σημαντικά τη θεραπευτική της αποτελεσματικότητα. Μεταβολές στην έκφραση συγκεκριμένων miRNAs έχουν συσχετιστεί με την αντοχή στις ταξάνες, μέσω της επίδρασής τους σε μηχανισμούς που σχετίζονται με την απόπτωση, την κυτταρική επιβίωση και την απομάκρυνση του φαρμάκου από τα καρκινικά κύτταρα [89], [90].

Ένας από τους μηχανισμούς αυτούς αφορά τη ρύθμιση πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην απομάκρυνση των φαρμάκων από τα καρκινικά κύτταρα. Ειδικότερα, αυξημένη έκφραση του miR-1307 έχει παρατηρηθεί σε ανθεκτικά στην πακλιταξέλη κύτταρα καρκίνου των ωοθηκών. Το miR-1307 μπορεί να ενισχύσει την έκφραση του MDR1/ABCB1 μέσω του άξονα CIC/ETV4. Το MDR1/ABCB1 κωδικοποιεί την P-γλυκοπρωτεΐνη (P-gp), έναν μεμβρανικό μεταφορέα που προάγει την εκροή φαρμάκων από το κύτταρο, μειώνοντας την ενδοκυττάρια συγκέντρωσή τους και συμβάλλοντας στην ανάπτυξη ανθεκτικού φαινοτύπου [89].

Παράλληλα, τα miRNAs μπορούν να επηρεάσουν την ανταπόκριση στην πακλιταξέλη μέσω της ρύθμισης της απόπτωσης και ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών. Για παράδειγμα, το miR-630 έχει συσχετιστεί με αντοχή στην πακλιταξέλη μέσω της καταστολής του αποπτωτικού παράγοντα APAF-1, ενώ η μείωση της έκφρασής του έχει συσχετιστεί με αυξημένη ευαισθησία στη θεραπεία [89]. Επιπλέον, συγκριτική ανάλυση κυττάρων ευαίσθητων και ανθεκτικών στην πακλιταξέλη ανέδειξε εκτεταμένες μεταβολές στο προφίλ έκφρασης των miRNAs, με σημαντική συμμετοχή γονιδίων του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/AKT, το οποίο σχετίζεται με την κυτταρική επιβίωση και την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου [90].

Συνολικά, τα δεδομένα δείχνουν ότι τα miRNAs μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη αντοχής στις ταξάνες μέσω διαφορετικών μοριακών μηχανισμών. Οι μεταβολές στην έκφρασή τους αναδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο τους στη

διαμόρφωση της ανταπόκρισης των καρκινικών κυττάρων στην πακλιταξέλη [89], [90].

6.4 miRNAs και απόκριση στους αναστολείς PARP

Οι αναστολείς της πολυ(ADP-ριβόζης) πολυμεράσης (poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors, PARPi) αποτελούν σημαντική κατηγορία στοχευμένων θεραπειών στον καρκίνο των ωοθηκών, καθώς παρεμβαίνουν στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Ωστόσο, η ανάπτυξη αντοχής μπορεί να περιορίσει τη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα. Τα miRNAs φαίνεται ότι συμμετέχουν στη ρύθμιση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων στους PARPi, επηρεάζοντας γονίδια και μοριακά μονοπάτια που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA και την κυτταρική επιβίωση [91], [92].

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το miR-20b, το οποίο έχει συσχετιστεί με αυξημένη ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών στην ολαπαρίμπη. Η υπερέκφραση του καταστέλλει την κυκλίνη D1 και μειώνει την έκφραση της RAD51, επηρεάζοντας την επιδιόρθωση του DNA μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού. Σε πειραματικά μοντέλα, η υπερέκφραση του miR-20b ενίσχυσε την ανταπόκριση στην ολαπαρίμπη τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* [91].

Παράλληλα, πρόσφατη ανάλυση κυττάρων υψηλού βαθμού ορώδους καρκίνου των ωοθηκών με επίκτητη αντοχή στην ολαπαρίμπη ανέδειξε διαφορετικό πρότυπο έκφρασης miRNAs σε σύγκριση με τα ευαίσθητα κύτταρα. Μεταξύ αυτών, τα miR-99b-5p, miR-424-3p και miR-505-5p παρουσίασαν μειωμένη έκφραση στα ανθεκτικά κύτταρα. Επιπλέον, μεταβολές στην έκφραση συγκεκριμένων miRNAs παρατηρήθηκαν κατά την επαναφορά της ευαισθησίας στην ολαπαρίμπη μετά από συνδυασμένη αναστολή των ATR/CHK1, υποδεικνύοντας τη συμμετοχή σύνθετων δικτύων miRNA-mRNA στη ρύθμιση της ανταπόκρισης στους PARPi [92].

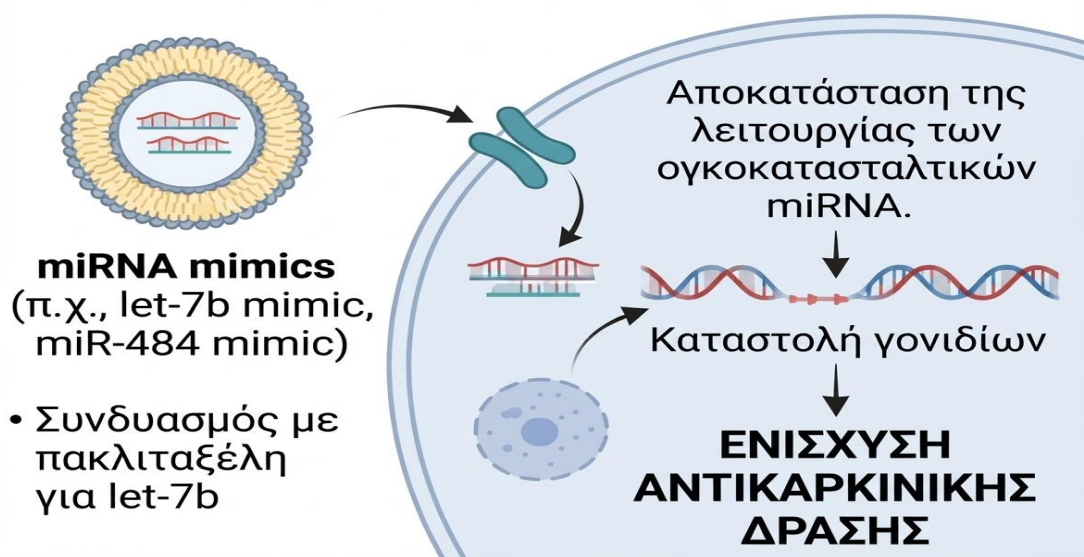
Συνολικά, τα διαθέσιμα δεδομένα υποστηρίζουν ότι οι μεταβολές στην έκφραση των miRNAs μπορούν να επηρεάσουν την ανταπόκριση στους αναστολείς PARP, ιδιαίτερα, μέσω της ρύθμισης μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA. Παρότι τα ευρήματα είναι ενθαρρυντικά, απαιτείται περαιτέρω κλινική επιβεβαίωση για την αποσαφήνιση της σημασίας τους στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών [91], [92].

6.5 Θεραπευτική στόχευση των miRNAs

Η συμμετοχή των miRNAs στην ανάπτυξη, εξέλιξη και θεραπευτική αντοχή του καρκίνου των ωοθηκών έχει οδηγήσει στη διερεύνησή τους και ως πιθανών θεραπευτικών στόχων. Οι βασικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν είτε την αποκατάσταση της λειτουργίας miRNAs με ογκοκατασταλτική δράση, τα οποία εμφανίζουν μειωμένη έκφραση στα καρκινικά κύτταρα, είτε την αναστολή ογκογόνων miRNAs που παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση. Για τον σκοπό αυτό, έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές στρατηγικές, μεταξύ των οποίων τα miRNA mimics και οι ειδικοί αναστολείς miRNAs [87].

6.5.1 miRNA mimics

Τα miRNA mimics είναι συνθετικά μόρια RNA σχεδιασμένα ώστε να μιμούνται τη λειτουργία ενδογενών miRNAs. Η θεραπευτική τους χρήση αποσκοπεί, κυρίως, στην αποκατάσταση της δράσης ογκοκατασταλτικών miRNAs των οποίων η έκφραση έχει μειωθεί στα καρκινικά κύτταρα. Μετά την είσοδό τους στο κύτταρο μπορούν να συμμετέχουν στον φυσιολογικό μηχανισμό ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης και να καταστέλλουν γονίδια-στόχους που σχετίζονται με την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη θεραπευτική αντοχή των καρκινικών κυττάρων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 14 [87].



Εικόνα 14: Σχηματική αναπαράσταση της δράσης των miRNA mimics στη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών. Πηγή: Προσαρμογή από BioRender

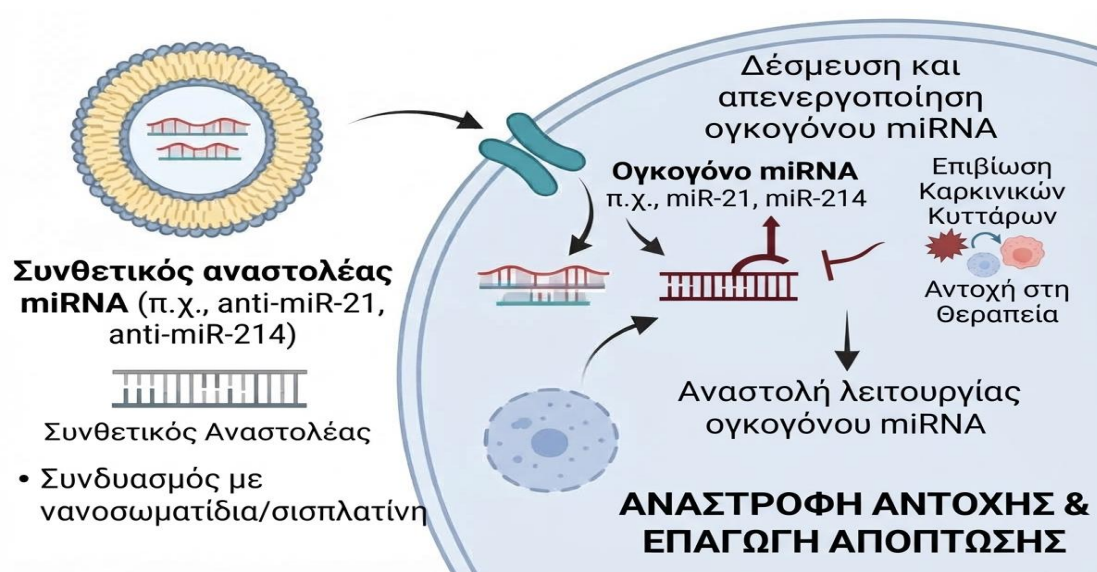
Στον καρκίνο των ωοθηκών έχουν διερευνηθεί πειραματικά διάφορα miRNA mimics. Ενδεικτικά, η αποκατάσταση της έκφρασης του let-7b μέσω miRNA mimic έχει μελετηθεί σε συνδυασμό με πακλιταξέλη και έχει συσχετιστεί με ενίσχυση της αντικαρκινικής δράσης της θεραπείας. Παράλληλα, η χορήγηση miR-484 mimic έχει διερευνηθεί ως προσέγγιση για την καταστολή της ανάπτυξης του όγκου, υποστηρίζοντας τη δυνατότητα θεραπευτικής αποκατάστασης συγκεκριμένων miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών [87].

Παρότι τα μέχρι σήμερα πειραματικά δεδομένα είναι ενθαρρυντικά, η αποτελεσματική αξιοποίηση των miRNA mimics εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ασφαλή και στοχευμένη μεταφορά τους στα καρκινικά κύτταρα. Το ζήτημα αυτό αποτελεί μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις της θεραπευτικής εφαρμογής των miRNAs και αναλύεται ειδικότερα στην ενότητα 6.5.3.

6.5.2 Αναστολείς miRNAs και antagomiR

Μια δεύτερη θεραπευτική προσέγγιση βασίζεται στην αναστολή miRNAs με ογκογόνο δράση, τα οποία εμφανίζουν αυξημένη έκφραση στα καρκινικά κύτταρα και προάγουν διεργασίες, όπως ο πολλαπλασιασμός, η επιβίωση και η θεραπευτική αντοχή. Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιούνται συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια, γνωστά ως anti-miRNAs ή antagomiRs, τα οποία συνδέονται συμπληρωματικά με το αντίστοιχο miRNA και περιορίζουν τη λειτουργική του δράση [87].

Στον καρκίνο των ωοθηκών, χαρακτηριστικό θεραπευτικό στόχο αποτελεί το miR-21, το οποίο έχει συσχετιστεί με ογκογόνο δράση και αντοχή στη θεραπεία. Η χρήση anti-miR-21 έχει διερευνηθεί σε συνδυασμό με νανοσωματίδια, με στόχο την αποτελεσματικότερη μεταφορά του αναστολέα στα καρκινικά κύτταρα και τον περιορισμό ανεπιθύμητων επιδράσεων σε φυσιολογικούς ιστούς. Αντίστοιχα, έχει μελετηθεί η αναστολή του miR-214 με ειδικό anti-miR-214 σε συνδυασμό με σισπλατίνη, όπως φαίνεται στην Εικόνα 15. Η συγκεκριμένη προσέγγιση ενίσχυσε την απόπτωση σε ανθεκτικά στη σισπλατίνη κύτταρα καρκίνου των ωοθηκών, υποστηρίζοντας τη δυνατότητα αντιστροφής της θεραπευτικής αντοχής μέσω της αναστολής ογκογόνων miRNAs [87].



Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση της θεραπευτικής προσέγγισης της αναστολής ογκογόνων miRNAs (anti-miRNA) στον καρκίνο των ωοθηκών. Πηγή: Προσαρμογή από BioRender

Η θεραπευτική αναστολή των miRNAs αποτελεί, επομένως, μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική, ιδιαίτερα, όταν η αυξημένη έκφραση ενός συγκεκριμένου miRNA συμβάλλει άμεσα στην ανάπτυξη αντοχής ή στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την ειδικότητα, τη σταθερότητα και την αποτελεσματική μεταφορά των αναστολέων στον όγκο.

6.5.3 Συστήματα χορήγησης

Η αποτελεσματική χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων που βασίζονται σε miRNAs αποτελεί βασική προϋπόθεση για την κλινική αξιοποίησή τους. Τα γυμνά μόρια RNA εμφανίζουν περιορισμένη σταθερότητα στο βιολογικό περιβάλλον, αποικοδομούνται γρήγορα από νουκλεάσες και παρουσιάζουν περιορισμένη ικανότητα διέλευσης των κυτταρικών μεμβρανών. Για τον λόγο αυτό, διερευνώνται διαφορετικά συστήματα μεταφοράς, τα οποία αποσκοπούν στην προστασία των miRNAs ή των αναστολέων τους και στην αποτελεσματικότερη μεταφορά τους στα καρκινικά κύτταρα [87], [93].

Μεταξύ των κυριότερων προσεγγίσεων περιλαμβάνονται τα λιπιδικά και πολυμερικά νανοσωματίδια, τα οποία μπορούν να ενθυλακώσουν miRNA mimics ή anti-miRNAs και να βελτιώσουν τη σταθερότητα και την κυτταρική τους πρόσληψη. Επιπλέον, η τροποποίηση της επιφάνειας των νανοφορέων με μόρια στόχευσης μπορεί να ενισχύσει τη συγκέντρωσή τους στον όγκο και να περιορίσει την έκθεση των φυσιολογικών ιστών [87].

Μια επιπλέον προσέγγιση για τη μεταφορά θεραπευτικών miRNAs αποτελεί η χρήση εξωσωμάτων, δηλαδή εξωκυττάρων κυστιδίων που μπορούν να μεταφέρουν RNA και άλλα βιολογικά μόρια μεταξύ των κυττάρων. Λόγω της βιοσυμβατότητάς τους και της ικανότητάς τους να μεταφέρουν νουκλεϊκά οξέα, έχουν μελετηθεί ως φορείς μεταφοράς θεραπευτικών miRNAs. Στον καρκίνο των ωοθηκών, τροποποιημένα εξωσώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη στοχευμένη μεταφορά του miR-484. Η προσέγγιση αυτή οδήγησε σε ομαλοποίηση του αγγειακού μικροπεριβάλλοντος και αύξηση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων στη χημειοθεραπεία σε προκλινικά μοντέλα [87], [93].

Παρά την πρόοδο των τελευταίων ετών, κανένα σύστημα χορήγησης δεν έχει ακόμη ξεπεράσει πλήρως προβλήματα, όπως η περιορισμένη ειδικότητα για τον όγκο, η αποτελεσματικότητα φόρτωσης, δηλαδή η αποτελεσματική ενσωμάτωση των θεραπευτικών μορίων στους φορείς, η σταθερότητα στην κυκλοφορία και η πιθανότητα ανεπιθύμητων ανοσολογικών επιδράσεων. Η βελτιστοποίηση των συστημάτων μεταφοράς αποτελεί, επομένως, βασικό βήμα για τη μελλοντική κλινική εφαρμογή θεραπευτικών προσεγγίσεων που βασίζονται στα miRNAs [93].

6.6 Περιορισμοί και προκλήσεις της θεραπευτικής αξιοποίησης των miRNAs

Παρά τις δυνατότητες που παρουσιάζουν τα miRNAs, ως θεραπευτικοί στόχοι στον καρκίνο των ωοθηκών, η μετάβαση από τα προκλινικά ευρήματα στην κλινική εφαρμογή συνοδεύεται από σημαντικές προκλήσεις. Ένα από τα βασικότερα προβλήματα αφορά τη σταθερότητα των θεραπευτικών μορίων στο βιολογικό περιβάλλον. Τα μόρια RNA είναι ευάλωτα στην αποικοδόμηση από νουκλεάσες, γεγονός που μπορεί να περιορίσει τον χρόνο παραμονής τους στην κυκλοφορία και, κατά συνέπεια, τη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα [87], [93].

Επιπλέον, σημαντική πρόκληση αποτελεί η αποτελεσματική και εκλεκτική μεταφορά των miRNA mimics ή των αναστολέων τους στα καρκινικά κύτταρα. Η ανεπαρκής συσσώρευση στον όγκο και η πρόσληψη από μη στοχευμένους ιστούς μπορούν να μειώσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας και να αυξήσουν τον κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών. Παρότι η ανάπτυξη νανοσωματιδίων και εξωσωμάτων έχει βελτιώσει τις δυνατότητες μεταφοράς, ζητήματα που αφορούν τη σταθερότητα, τη βιοκατανομή και την ειδικότητα των συστημάτων αυτών εξακολουθούν να αποτελούν αντικείμενο έρευνας [87], [93].

Μία ακόμη δυσκολία σχετίζεται με τον σύνθετο τρόπο δράσης των miRNAs. Ένα μόνο miRNA μπορεί να ρυθμίζει πολλαπλά γονίδια-στόχους, ενώ παράλληλα ένα γονίδιο μπορεί να επηρεάζεται από διαφορετικά miRNAs. Επομένως, η θεραπευτική τροποποίηση της έκφρασης ενός miRNA μπορεί να επηρεάσει περισσότερα από ένα κυτταρικά μονοπάτια, αυξάνοντας την πιθανότητα μη επιθυμητών επιδράσεων. Παράλληλα, η μοριακή ετερογένεια του καρκίνου των ωοθηκών μπορεί να επηρεάζει την ανταπόκριση σε μια θεραπεία που στοχεύει συγκεκριμένο miRNA, περιορίζοντας τη δυνατότητα εφαρμογής της ίδιας προσέγγισης σε όλες τις ασθενείς [87].

Συνεπώς, παρά τα ενθαρρυντικά προκλινικά δεδομένα, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τη βελτιστοποίηση της ασφάλειας, της ειδικότητας και της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών προσεγγίσεων που βασίζονται στα miRNAs. Η αντιμετώπιση αυτών των περιορισμών, σε συνδυασμό με την αξιολόγηση των νέων θεραπευτικών στρατηγικών σε κατάλληλα σχεδιασμένες κλινικές μελέτες, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη μελλοντική ενσωμάτωσή τους στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών [87].

Κεφάλαιο 7^ο: Μελλοντικές προοπτικές και νέες προσεγγίσεις

7.1 Προοπτικές κλινικής αξιοποίησης των miRNAs

Τα δεδομένα που έχουν προκύψει τα τελευταία χρόνια υποστηρίζουν τη δυνητική αξιοποίηση των miRNAs σε διαφορετικά στάδια της κλινικής διαχείρισης του καρκίνου των ωοθηκών. Τα ιδιαίτερα πρότυπα έκφρασής τους, η δυνατότητα ανίχνευσής τους τόσο στον καρκινικό ιστό όσο και σε βιολογικά υγρά και η συμμετοχή τους σε μηχανισμούς που σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου και τη θεραπευτική ανταπόκριση έχουν ενισχύσει το ενδιαφέρον για την αξιοποίησή τους ως βιοδεικτών με διαγνωστική, προγνωστική και προβλεπτική αξία. Παράλληλα, η δυνατότητα τροποποίησης της λειτουργίας τους μέσω miRNA mimics ή αναστολέων διευρύνει τις προοπτικές αξιοποίησής τους και ως θεραπευτικών στόχων [83], [87].

Ωστόσο, παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, η μετάβαση των miRNAs από το ερευνητικό επίπεδο στην καθημερινή κλινική πράξη παραμένει περιορισμένη. Ένα από τα σημαντικότερα εμπόδια είναι η ετερογένεια μεταξύ των διαθέσιμων μελετών στον καρκίνο των ωοθηκών, η οποία αφορά, μεταξύ άλλων, τον ιστολογικό τύπο και το στάδιο της νόσου, το βιολογικό υλικό που αναλύεται, τις μεθόδους απομόνωσης και ποσοτικοποίησης των miRNAs, καθώς και τις διαδικασίες κανονικοποίησης των αποτελεσμάτων. Οι διαφορές αυτές δυσχεραίνουν την άμεση σύγκριση μεταξύ των μελετών και μπορούν να οδηγήσουν στην αναγνώριση διαφορετικών miRNAs [53], [84].

Για την κλινική εφαρμογή των miRNAs απαιτείται, επομένως, μεγαλύτερη τυποποίηση των προαναλυτικών και αναλυτικών διαδικασιών, καθώς και επικύρωση των υποψήφιων βιοδεικτών σε μεγάλες και ανεξάρτητες ομάδες ασθενών. Ιδιαίτερη σημασία έχει η αξιολόγησή τους σε κατάλληλα σχεδιασμένες προοπτικές κλινικές μελέτες, ώστε να προσδιοριστεί εάν η διαγνωστική ή προγνωστική τους απόδοση διατηρείται σε πραγματικές κλινικές συνθήκες [53], [84]. Παράλληλα, η αξιολόγηση συνδυαστικών προτύπων έκφρασης περισσότερων miRNAs φαίνεται ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα, καθώς μπορεί να αποτυπώνει πληρέστερα τη μοριακή ετερογένεια του καρκίνου των ωοθηκών σε σχέση με την αξιολόγηση ενός μεμονωμένου miRNA [58], [86].

Η μελλοντική κλινική αξιοποίηση των miRNAs είναι, επομένως, πιθανό να βασιστεί όχι μόνο σε μεμονωμένους μοριακούς δείκτες, αλλά και στον συνδυασμό τους με άλλες μοριακές και κλινικές πληροφορίες. Η ανάπτυξη τέτοιων σύνθετων προσεγγίσεων θα μπορούσε να συμβάλει στην ακριβέστερη διαστρωμάτωση των ασθενών και στην καλύτερη εκτίμηση της πορείας και της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Η κατεύθυνση αυτή συνδέεται άμεσα με την εξατομικευμένη ιατρική και την ανάπτυξη miRNA signatures και πολύ-ομικών προσεγγίσεων, οι οποίες εξετάζονται στην επόμενη ενότητα.

7.2 Εξατομικευμένη ιατρική και πολυ-ομικές προσεγγίσεις

Η σημαντική μοριακή ετερογένεια του καρκίνου των ωοθηκών καθιστά ιδιαίτερα σημαντική την ανάπτυξη εξατομικευμένων προσεγγίσεων, οι οποίες λαμβάνουν υπόψη τα ιδιαίτερα βιολογικά χαρακτηριστικά του όγκου κάθε ασθενούς. Στο πλαίσιο αυτό, τα πρότυπα έκφρασης των miRNAs μπορούν να προσφέρουν πρόσθετες πληροφορίες, σχετικά με τη βιολογική συμπεριφορά του όγκου, την πρόγνωση και την πιθανή ανταπόκριση στη θεραπεία, υποστηρίζοντας τη διερεύνησή τους στο πλαίσιο της ιατρικής ακριβείας [58], [87].

Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζει η ανάπτυξη miRNA signatures, δηλαδή συνδυαστικά πρότυπα έκφρασης πολλαπλών miRNAs. Σε αντίθεση με την αξιολόγηση ενός μεμονωμένου miRNA, τα πρότυπα αυτά μπορούν να αποτυπώσουν πληρέστερα τη σύνθετη μοριακή εικόνα της νόσου. Στον καρκίνο των ωοθηκών έχουν αναγνωριστεί διαφορετικά miRNA signatures που σχετίζονται με κλινικά χαρακτηριστικά και την πορεία της νόσου, γεγονός που υποστηρίζει τη δυνητική αξιοποίησή τους για τη διαστρωμάτωση των ασθενών και την ανάπτυξη περισσότερο εξατομικευμένων στρατηγικών [58]. Ωστόσο, η ετερογένεια των προτεινόμενων προτύπων έκφρασης miRNAs και η ανεπαρκής επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σε ανεξάρτητες ομάδες ασθενών εξακολουθούν να δυσχεραίνουν την άμεση εφαρμογή τους στην κλινική πράξη.

Μια ευρύτερη προοπτική αποτελεί η ενσωμάτωση των δεδομένων έκφρασης των miRNAs με πληροφορίες που προέρχονται από διαφορετικά επίπεδα μοριακής ανάλυσης. Οι πολυ-ομικές προσεγγίσεις συνδυάζουν δεδομένα από τη γονιδιωματική, τη μεταγραφωμική, την επιγενωμική, την πρωτεωμική και τη μεταβολομική, με στόχο την πληρέστερη κατανόηση της βιολογίας και της ετερογένειας του όγκου [94]. Η

ενσωμάτωση των δεδομένων έκφρασης των miRNAs σε τέτοια πολυδιάστατα σύνολα δεδομένων μπορεί να συμβάλει στην αναγνώριση σύνθετων μοριακών προτύπων, νέων βιοδεικτών και πιθανών θεραπευτικών στόχων.

Παρά τις δυνατότητες αυτές, η εφαρμογή των πολυ-ομικών προσεγγίσεων συνοδεύεται από σημαντικές μεθοδολογικές και υπολογιστικές προκλήσεις. Η ετερογένεια των διαθέσιμων δεδομένων, οι διαφορετικές τεχνολογικές πλατφόρμες και τα πρωτόκολλα ανάλυσης, καθώς και η απουσία πλήρως εναρμονισμένων προτύπων μπορούν να περιορίσουν την αναπαραγωγιμότητα και την κλινική αξιοποίηση των αποτελεσμάτων [94]. Συνολικά, ο συνδυασμός των δεδομένων έκφρασης των miRNAs με άλλα επίπεδα μοριακής πληροφορίας μπορεί να συμβάλει στην πληρέστερη κατανόηση της ετερογένειας του καρκίνου των ωοθηκών και να υποστηρίξει την ανάπτυξη πιο εξατομικευμένων προσεγγίσεων για τη διαχείριση της νόσου.

7.3 Τεχνητή Νοημοσύνη και υπολογιστικές προσεγγίσεις στη μελέτη των miRNAs

Η συνεχώς αυξανόμενη παραγωγή μοριακών δεδομένων έχει ενισχύσει τη χρήση υπολογιστικών μεθόδων και τεχνικών τεχνητής νοημοσύνης (Artificial Intelligence, AI) στη μελέτη του καρκίνου των ωοθηκών. Ειδικότερα, οι μέθοδοι μηχανικής μάθησης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση σύνθετων προτύπων έκφρασης miRNAs, την επιλογή των σημαντικότερων μοριακών χαρακτηριστικών και την ανάπτυξη μοντέλων που μπορούν να συμβάλουν στη διάγνωση και στην πρόβλεψη της πορείας της νόσου [95], [96].

Πρόσφατες μελέτες έχουν διερευνήσει ειδικότερα την εφαρμογή της μηχανικής μάθησης στην ανάλυση των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών. Σε μία από αυτές, εφαρμόστηκε η μέθοδος Boruta για την επιλογή κυκλοφορούντων miRNAs που σχετίζονται με τη νόσο και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικοί αλγόριθμοι μηχανικής μάθησης για την ανάπτυξη μοντέλων διάκρισης μεταξύ ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών και ατόμων χωρίς καρκίνο. Η ανάλυση ανέδειξε δέκα miRNAs με πιθανή διαγνωστική αξία, ενώ η απόδοση των μοντέλων αξιολογήθηκε και σε ανεξάρτητα σύνολα δεδομένων [95]. Παράλληλα, σε άλλη μελέτη διερευνήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης της μηχανικής μάθησης για την πρόωμη ανίχνευση της νόσου. Συγκεκριμένα, ένας συνδυασμός 14 κυκλοφορούντων miRNAs αξιολογήθηκε με τη χρήση του αλγορίθμου XGBoost σε δείγματα ορού που είχαν συλλεχθεί πριν από τη διάγνωση του καρκίνου των ωοθηκών. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν τη δυνατότητα

συνδυασμού δεδομένων έκφρασης πολλαπλών miRNAs με υπολογιστικές μεθόδους για την αναγνώριση σύνθετων μοριακών προτύπων που ενδέχεται να συμβάλουν στην πρόωμη ανίχνευση της νόσου [96].

Παρότι τα αποτελέσματα αυτά είναι ενθαρρυντικά, η εφαρμογή της Τεχνητής Νοημοσύνης στη μελέτη των miRNAs στον καρκίνο των ωοθηκών βρίσκεται ακόμη, κυρίως, σε ερευνητικό στάδιο. Η αξιοπιστία των υπολογιστικών μοντέλων εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την ποιότητα και την αντιπροσωπευτικότητα των δεδομένων που χρησιμοποιούνται, ενώ απαιτείται περαιτέρω αξιολόγησή τους σε μεγάλες και ανεξάρτητες ομάδες ασθενών πριν από την κλινική τους αξιοποίηση. Στο μέλλον, οι μέθοδοι αυτές θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα σημαντικό συμπληρωματικό εργαλείο για την ανάλυση των miRNAs και την ενσωμάτωσή τους με άλλα μοριακά και κλινικά δεδομένα, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη πιο εξατομικευμένων προσεγγίσεων στον καρκίνο των ωοθηκών [95], [96].

Κεφάλαιο 8^ο: Συμπεράσματα – Συζήτηση

Από τη συνολική αξιολόγηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι τα miRNAs συμμετέχουν ουσιαστικά στη μοριακή παθογένεια του καρκίνου των ωοθηκών, επηρεάζοντας δίκτυα γονιδίων και σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου. Η δράση τους, ωστόσο, δεν μπορεί να αποδοθεί σε μεμονωμένα μόρια, καθώς διαφοροποιείται ανάλογα με το μοριακό και κυτταρικό περιβάλλον. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την ετερογένεια της νόσου, μπορεί να ερμηνεύσει τις αποκλίσεις που παρατηρούνται μεταξύ των μελετών ως προς τα miRNAs που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη βιολογική ή κλινική σημασία.

Σε κλινικό επίπεδο, τα μέχρι σήμερα δεδομένα υποστηρίζουν τη δυνητική αξιοποίηση των miRNAs στη διάγνωση, την πρόγνωση και την εκτίμηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης, χωρίς όμως να δικαιολογούν ακόμη την καθιέρωσή τους στην καθημερινή κλινική πράξη. Η έλλειψη τυποποιημένων μεθόδων και η ετερογένεια των διαθέσιμων μελετών αποτελούν βασικά εμπόδια για την επικύρωση σταθερών και αξιόπιστων βιοδεικτών. Παράλληλα, η θεραπευτική στόχευση των miRNAs παραμένει, κυρίως, σε ερευνητικό στάδιο, καθώς ζητήματα όπως η εκλεκτική χορήγηση, η ασφάλεια και οι πιθανές επιδράσεις σε πολλαπλούς μοριακούς στόχους δεν έχουν ακόμη επιλυθεί.

Συμπερασματικά, τα miRNAs αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας στον καρκίνο των ωοθηκών, χωρίς όμως να δικαιολογούν ακόμη την καθιέρωσή τους στην καθημερινή κλινική πράξη. Η μεγαλύτερη προοπτική φαίνεται να βρίσκεται στην ένταξή τους σε μια πιο ολοκληρωμένη προσέγγιση της νόσου, όπου τα δεδομένα έκφρασης των miRNAs θα συνεκτιμώνται με άλλα μοριακά και κλινικά χαρακτηριστικά κάθε ασθενούς. Η ανάπτυξη πολυ-ομικών προσεγγίσεων και η αξιοποίηση σύγχρονων υπολογιστικών μεθόδων μπορούν να ενισχύσουν αυτή την κατεύθυνση, υπό την προϋπόθεση ότι τα ευρήματα θα επιβεβαιωθούν σε μεγάλες, ανεξάρτητες και κατάλληλα σχεδιασμένες κλινικές μελέτες. Έτσι, η πραγματική μελλοντική αξία των miRNAs ενδέχεται να μην βρίσκεται στην αναζήτηση ενός μοναδικού «ιδανικού» βιοδείκτη ή θεραπευτικού στόχου, αλλά στην αξιοποίησή τους ως μέρος μιας πολυπαραγοντικής και περισσότερο εξατομικευμένης προσέγγισης του καρκίνου των ωοθηκών.

Βιβλιογραφία

- [1] Krieghoff-Henning E, Folkerts J, Penzkofer A, Weg-Remers S. Cancer – an overview. *Med Monatsschr Pharm.* 2017;40(2):48–54.
- [2] Brown JS, Amend SR, Austin RH, Gatenby RA, Hammarlund EU, Pienta KJ. Updating the definition of cancer. *Mol Cancer Res.* 2023;21(11):1142–1147. doi:10.1158/1541-7786.MCR-23-0411.
- [3] Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Kalagasidou S, Pagkalos A, Alatzidou D, Kantari P, Ntounis T, Fasoulakis Z. Basic principles of molecular biology of cancer cell-molecular cancer indicators. *J BUON.* 2021;26(5):1723–1734.
- [4] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [5] Hanahan D. Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discov.* 2022;12(1):31–46. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
- [6] Lansdorp PM. Telomeres, telomerase and cancer. *Arch Med Res.* 2022;53(8):741–746. doi:10.1016/j.arcmed.2022.10.004.
- [7] Castillo Ferrer C, Berthenet K, Ichim G. Apoptosis – fueling the oncogenic fire. *FEBS J.* 2021;288(15):4445–4463. doi:10.1111/febs.15624.
- [8] Morana O, Wood W, Gregory CD. The apoptosis paradox in cancer. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1328. doi:10.3390/ijms23031328.
- [9] Gerstberger S, Jiang Q, Ganesh K. Metastasis. *Cell.* 2023;186(8):1564–1579. doi:10.1016/j.cell.2023.03.003.
- [10] Bui S, Mejia I, Díaz B, Wang Y. Adaptation of the Golgi apparatus in cancer cell invasion and metastasis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:806482. doi:10.3389/fcell.2021.806482.
- [11] El-Tanani M, Rabbani SA, Babiker R, Rangraze I, Kapre S, Palakurthi SS, et al. Unraveling the tumor microenvironment: Insights into cancer metastasis and therapeutic strategies. *Cancer Lett.* 2024;591:216894. doi:10.1016/j.canlet.2024.216894.

- [12] Desai SA, Patel VP, Bhosle KP, Nagare SD, Thombare KC. The tumor microenvironment: Shaping cancer progression and treatment response. *J Chemother*. 2025;37(1):15–44. doi:10.1080/1120009X.2023.2300224.
- [13] Delisi D, Eskandari N, Gentile S. Membrane potential: A new hallmark of cancer. *Adv Cancer Res*. 2024;164:93–110. doi:10.1016/bs.acr.2024.04.010.
- [14] Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaos A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, et al. Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: A review. *Anticancer Res*. 2020;40(11):6009–6015. doi:10.21873/anticancer.14622.
- [15] Fearon ER, Bommer GT. Progressing from gene mutations to cancer. In: Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG, editors. *Abeloff's Clinical Oncology*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p. 207–222. doi:10.1016/B978-0-443-06694-8.50017-8.
- [16] Dakal TC, Dhabhai B, Pant A, Moar K, Chaudhary K, Yadav V, et al. Oncogenes and tumor suppressor genes: Functions and roles in cancers. *MedComm (2020)*. 2024;5(6):e582. doi:10.1002/mco2.582.
- [17] Moon J, Kitty I, Renata K, Qin S, Zhao F, Kim W. DNA damage and its role in cancer therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4741. doi:10.3390/ijms24054741.
- [18] Guffanti F, Chiappa M, Damia G. Targeting the DNA damage response in cancer. *MedComm (2020)*. 2024;5(11):e788. doi:10.1002/mco2.788.
- [19] Sherif ZA, Ogunwobi OO, Ransom HW. Mechanisms and technologies in cancer epigenetics. *Front Oncol*. 2025;14:1513654. doi:10.3389/fonc.2024.1513654.
- [20] Yu X, Zhao H, Wang R, Chen Y, Ouyang X, Li W, et al. Cancer epigenetics: From laboratory studies and clinical trials to precision medicine. *Cell Death Discov*. 2024;10(1):28. doi:10.1038/s41420-024-01803-z.
- [21] Seong H, Izutsu R, Osaki M, Okada F. Cancer prevention: Past challenges and future directions. *Genes Environ*. 2025;47(1):4. doi:10.1186/s41021-025-00326-y.
- [22] Hodgson SV, Foulkes WD, Maher ER, Turnbull C. Inherited susceptibility to cancer: Past, present and future. *Ann Hum Genet*. 2025;89(5):354–365. doi:10.1111/ahg.70013.

- [23] Hatta MNA, Mohamad Hanif EA, Chin SF, Neoh HM. Pathogens and carcinogenesis: A review. *Biology (Basel)*. 2021;10(6):533. doi:10.3390/biology10060533.
- [24] Ashouri A, Zhang C, Gaiti F. Decoding cancer evolution: Integrating genetic and non-genetic insights. *Genes (Basel)*. 2023;14(10):1856. doi:10.3390/genes14101856.
- [25] Goyette MA, Lipsyc-Sharf M, Polyak K. Clinical and translational relevance of intratumor heterogeneity. *Trends Cancer*. 2023;9(9):726–737. doi:10.1016/j.trecan.2023.05.001.
- [26] Li X, Li Z, Ma H, Li X, Zhai H, Li X, et al. Ovarian cancer: Diagnosis and treatment strategies (Review). *Oncol Lett*. 2024;28(3):441. doi:10.3892/ol.2024.14574.
- [27] Gibson E, Mahdy H. Anatomy, abdomen and pelvis, ovary. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
- [28] Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. *Κλινική Ανατομία*. 3η έκδ. Λευκωσία: Broken Hill Publishers Ltd/Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης; 2016.
- [29] Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall Ιατρική Φυσιολογία*. 14η έκδ. Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.; 2023.
- [30] Sung H, Filho AM, Laversanne M, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2024: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 34 cancers in 186 countries. *CA Cancer J Clin*. 2026;76(4):e70090. doi:10.3322/caac.70090.
- [31] Ervik M, Laversanne M, Lam F, Colombet M, Ferlay J, Filho AM, Bray F. *Global Cancer Observatory: Cancer Today (2024 estimates, version 1.0)*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2026. Διαθέσιμο από: <https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/maps-heatmap?mode=population&cancers=25>
- [32] Ali AT, Al-Ani O, Al-Ani F. Epidemiology and risk factors for ovarian cancer. *Prz Menopauzalny*. 2023;22(2):93–104. doi:10.5114/pm.2023.128661.
- [33] Barili V, Ambrosini E, Bortesi B, Minari R, De Sensi E, Cannizzaro IR, et al. Genetic basis of breast and ovarian cancer: Approaches and lessons learnt from three

decades of inherited predisposition testing. *Genes (Basel)*. 2024;15(2):219. doi:10.3390/genes15020219.

[34] Whelan E, Kalliala I, Semertzidou A, Raglan O, Bowden S, Kechagias K, et al. Risk factors for ovarian cancer: An umbrella review of the literature. *Cancers (Basel)*. 2022;14(11):2708. doi:10.3390/cancers14112708.

[35] De Leo A, Santini D, Ceccarelli C, Santandrea G, Palicelli A, Acquaviva G, et al. What is new on ovarian carcinoma: Integrated morphologic and molecular analysis following the new 2020 World Health Organization classification of female genital tumors. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(4):697. doi:10.3390/diagnostics11040697.

[36] Sambasivan S. Epithelial ovarian cancer: Review article. *Cancer Treat Res Commun*. 2022;33:100629. doi:10.1016/j.ctarc.2022.100629.

[37] National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. The biology of ovarian cancers. In: *Ovarian Cancers: Evolving Paradigms in Research and Care*. Washington (DC): National Academies Press; 2016. p. 57–96. doi:10.17226/21841.

[38] Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, editors. *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2020.

[39] Kurman RJ, Shih IM. The dualistic model of ovarian carcinogenesis: Revisited, revised, and expanded. *Am J Pathol*. 2016;186(4):733–747. doi:10.1016/j.ajpath.2015.11.011.

[40] Mei S, Chen X, Wang K, Chen Y. Tumor microenvironment in ovarian cancer peritoneal metastasis. *Cancer Cell Int*. 2023;23(1):11. doi:10.1186/s12935-023-02854-5.

[41] Perez-Fidalgo JA, Gálvez-Montosa F, Guerra EM, Madariaga A, Manzano A, Martin-Lorente C, et al. SEOM-GEICO clinical guideline on epithelial ovarian cancer (2023). *Clin Transl Oncol*. 2024;26(11):2758–2770. doi:10.1007/s12094-024-03531-3.

[42] Ghose A, McCann L, Makker S, Mukherjee U, Gullapalli SVN, Erekkath J, et al. Diagnostic biomarkers in ovarian cancer: Advances beyond CA125 and HE4. *Ther Adv Med Oncol*. 2024;16:17588359241233225. doi:10.1177/17588359241233225.

- [43] Renz M, Friedlander M, Berek JS. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2025 update. *Int J Gynaecol Obstet.* 2025;171(Suppl 1):6–35. doi:10.1002/ijgo.70282.
- [44] Shang R, Lee S, Senavirathne G, Lai EC. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation. *Nat Rev Genet.* 2023;24(12):816–833. doi:10.1038/s41576-023-00611-y.
- [45] Suzuki HI. Roles of MicroRNAs in Disease Biology. *JMA J.* 2023;6(2):104–113. doi:10.31662/jmaj.2023-0009.
- [46] Hynes C, Kakumani PK. Regulatory role of RNA-binding proteins in microRNA biogenesis. *Front Mol Biosci.* 2024;11:1374843. doi:10.3389/fmolb.2024.1374843.
- [47] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116(2):281–297. doi:10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
- [48] Hwang H, Chang HR, Baek D. Determinants of functional microRNA targeting. *Mol Cells.* 2023;46(1):21–32. doi:10.14348/molcells.2023.2157.
- [49] McGeary SE, Lin KS, Shi CY, Pham TM, Bisaria N, Kelley GM, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy. *Science.* 2019;366(6472):eaav1741. doi:10.1126/science.aav1741.
- [50] Song JL, Nigam P, Tektas SS, Selva E. microRNA regulation of Wnt signaling pathways in development and disease. *Cell Signal.* 2015;27(7):1380–1391. doi:10.1016/j.cellsig.2015.03.018.
- [51] Divisato G, Passaro F, Russo T, Parisi S. The key role of microRNAs in self-renewal and differentiation of embryonic stem cells. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6285. doi:10.3390/ijms21176285.
- [52] Fu J, Imani S, Wu MY, Wu RC. MicroRNA-34 family in cancers: Role, mechanism, and therapeutic potential. *Cancers (Basel).* 2023;15(19):4723. doi:10.3390/cancers15194723.
- [53] Takizawa S, Matsuzaki J, Ochiya T. Circulating microRNAs: Challenges with their use as liquid biopsy biomarkers. *Cancer Biomark.* 2022;35(1):1–9. doi:10.3233/CBM-210223.

- [54] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(12):5003–5008. doi:10.1073/pnas.1019055108.
- [55] Berumen Sánchez G, Bunn KE, Pua HH, Rafat M. Extracellular vesicles: Mediators of intercellular communication in tissue injury and disease. *Cell Commun Signal*. 2021;19(1):104. doi:10.1186/s12964-021-00787-y.
- [56] Petrou L, Ladame S. On-chip miRNA extraction platforms: Recent technological advances and implications for next generation point-of-care nucleic acid tests. *Lab Chip*. 2022;22(3):463–475. doi:10.1039/D1LC00868D.
- [57] Matulić M, Gršković P, Petrović A, Begić V, Harabajsa S, Korać P. miRNA in molecular diagnostics. *Bioengineering (Basel)*. 2022;9(9):459. doi:10.3390/bioengineering9090459.
- [58] Krasniqi E, Sacconi A, Marinelli D, Pizzuti L, Mazzotta M, Sergi D, et al. MicroRNA-based signatures impacting clinical course and biology of ovarian cancer: A miRNomics study. *Biomark Res*. 2021;9:57. doi:10.1186/s40364-021-00289-6.
- [59] Zhang L, Volinia S, Bonome T, Calin GA, Greshock J, Yang N, et al. Genomic and epigenetic alterations deregulate microRNA expression in human epithelial ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(19):7004–7009. doi:10.1073/pnas.0801615105.
- [60] Fu M, Deng F, Chen J, Fu L, Lei J, Xu T, et al. Current data and future perspectives on DNA methylation in ovarian cancer (Review). *Int J Oncol*. 2024;64(6):62. doi:10.3892/ijo.2024.5650.
- [61] Merritt WM, Lin YG, Han LY, Kamat AA, Spannuth WA, Schmandt R, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(25):2641–2650. doi:10.1056/NEJMoa0803785.
- [62] Kandettu A, Adiga D, Devi V, Suresh PS, Chakrabarty S, Radhakrishnan R, et al. Deregulated miRNA clusters in ovarian cancer: Imperative implications in personalized medicine. *Genes Dis*. 2022;9(6):1443–1465. doi:10.1016/j.gendis.2021.12.026.

- [63] Liu HY, Zhang YY, Zhu BL, Feng FZ, Yan H, Zhang HY, et al. miR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(10):4149–4155. doi:10.26355/eurrev_201905_17917.
- [64] Fan X, Liu Y, Jiang J, Ma Z, Wu H, Liu T, et al. miR-20a promotes proliferation and invasion by targeting APP in human ovarian cancer cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2010;42(5):318–324. doi:10.1093/abbs/gmq026.
- [65] Wang YQ, Guo RD, Guo RM, Sheng W, Yin LR. MicroRNA-182 promotes cell growth, invasion, and chemoresistance by targeting programmed cell death 4 (PDCD4) in human ovarian carcinomas. *J Cell Biochem.* 2013;114(7):1464–1473. doi:10.1002/jcb.24488.
- [66] Dong R, Liu X, Zhang Q, Jiang Z, Li Y, Wei Y, et al. miR-145 inhibits tumor growth and metastasis by targeting metadherin in high-grade serous ovarian carcinoma. *Oncotarget.* 2014;5(21):10816–10829. doi:10.18632/oncotarget.2522.
- [67] Helland Å, Anglesio MS, George J, Cowin PA, Johnstone CN, House CM, et al. Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PLoS One.* 2011;6(4):e18064. doi:10.1371/journal.pone.0018064.
- [68] Zhang Z, Zhang L, Wang B, Wei R, Wang Y, Wan J, et al. miR-337-3p suppresses proliferation of epithelial ovarian cancer by targeting PIK3CA and PIK3CB. *Cancer Lett.* 2020;469:54–67. doi:10.1016/j.canlet.2019.10.021.
- [69] Sun C, Li N, Zhou B, Yang Z, Ding D, Weng D, et al. miR-222 is upregulated in epithelial ovarian cancer and promotes cell proliferation by downregulating P27kip1. *Oncol Lett.* 2013;6(2):507–512. doi:10.3892/ol.2013.1393.
- [70] Liu G, Sun Y, Ji P, Li X, Cogdell D, Yang D, et al. miR-506 suppresses proliferation and induces senescence by directly targeting the CDK4/6-FOXM1 axis in ovarian cancer. *J Pathol.* 2014;233(3):308–318. doi:10.1002/path.4348.
- [71] Li X, Chen W, Zeng W, Wan C, Duan S, Jiang S. microRNA-137 promotes apoptosis in ovarian cancer cells via the regulation of XIAP. *Br J Cancer.* 2017;116(1):66–76. doi:10.1038/bjc.2016.379.

- [72] Bhattacharya R, Nicoloso M, Arvizo R, Wang E, Cortez A, Rossi S, et al. MiR-15a and MiR-16 control Bmi-1 expression in ovarian cancer. *Cancer Res.* 2009;69(23):9090–9095. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-2552.
- [73] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev.* 2008;22(7):894–907. doi:10.1101/gad.1640608.
- [74] Sun Y, Hu L, Zheng H, Bagnoli M, Guo Y, Rupaimoole R, et al. MiR-506 inhibits multiple targets in the epithelial-to-mesenchymal transition network and is associated with good prognosis in epithelial ovarian cancer. *J Pathol.* 2015;235(1):25–36. doi:10.1002/path.4443.
- [75] Nguyen VHL, Yue C, Du KY, Salem M, O'Brien J, Peng C. The role of microRNAs in epithelial ovarian cancer metastasis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7093. doi:10.3390/ijms21197093.
- [76] Parikh A, Lee C, Joseph P, Marchini S, Baccarini A, Kolev V, et al. microRNA-181a has a critical role in ovarian cancer progression through the regulation of the epithelial–mesenchymal transition. *Nat Commun.* 2014;5:2977. doi:10.1038/ncomms3977.
- [77] He J, Jing Y, Li W, Qian X, Xu Q, Li FS, et al. Roles and mechanism of miR-199a and miR-125b in tumor angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8(2):e56647. doi:10.1371/journal.pone.0056647.
- [78] Pecot CV, Rupaimoole R, Yang D, Akbani R, Ivan C, Lu C, et al. Tumour angiogenesis regulation by the miR-200 family. *Nat Commun.* 2013;4:2427. doi:10.1038/ncomms3427.
- [79] Cui M, Liu Y, Cheng L, Li T, Deng Y, Liu D. Research progress on anti-ovarian cancer mechanism of miRNA regulating tumor microenvironment. *Front Immunol.* 2022;13:1050917. doi:10.3389/fimmu.2022.1050917.
- [80] Górczak M, Kiraga Ł. Macrophages—Target and tool in tumor treatment: Insights from ovarian cancer. *Cancers (Basel).* 2025;17(19):3182. doi:10.3390/cancers17193182.

- [81] Mitra AK, Zillhardt M, Hua Y, Tiwari P, Murmann AE, Peter ME, et al. MicroRNAs reprogram normal fibroblasts into cancer-associated fibroblasts in ovarian cancer. *Cancer Discov.* 2012;2(12):1100–1108. doi:10.1158/2159-8290.CD-12-0206.
- [82] Ying X, Wu Q, Wu X, Zhu Q, Wang X, Jiang L, et al. Epithelial ovarian cancer-secreted exosomal miR-222-3p induces polarization of tumor-associated macrophages. *Oncotarget.* 2016;7(28):43076–43087. doi:10.18632/oncotarget.9246.
- [83] Kartikasari AER, Michel-Lara P, Exton H, Tekin-Sari K, Alnefai EMM, Mitchell A, et al. Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers to detect specific stages of ovarian cancer: A comprehensive meta-analysis. *Cancers (Basel).* 2024;16(24):4190. doi:10.3390/cancers16244190.
- [84] Frisk NLS, Sørensen AE, Pedersen OBV, Dalgaard LT. Circulating microRNAs for early diagnosis of ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis. *Biomolecules.* 2023;13(5):871. doi:10.3390/biom13050871.
- [85] He Z, Deng L, Wang Z. Prognostic value of micro-RNA in ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis. *Front Oncol.* 2025;15:1641602. doi:10.3389/fonc.2025.1641602.
- [86] Gahlawat AW, Witte T, Haarhuis L, Schott S. A novel circulating miRNA panel for non-invasive ovarian cancer diagnosis and prognosis. *Br J Cancer.* 2022;127(8):1550–1556. doi:10.1038/s41416-022-01925-0.
- [87] Putri HMAR, Novianti PW, Pradjatmo H, Haryana SM. MicroRNA-mediated approaches in ovarian cancer therapy: A comprehensive systematic review. *Oncol Lett.* 2024;28(4):491. doi:10.3892/ol.2024.14624.
- [88] Havasi A, Cainap SS, Havasi AT, Cainap C. Ovarian cancer—Insights into platinum resistance and overcoming it. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(3):544. doi:10.3390/medicina59030544.
- [89] Saburi A, Kahrizi MS, Naghsh N, Etemadi H, İlhan A, Adili A, et al. A comprehensive survey into the role of microRNAs in ovarian cancer chemoresistance; an updated overview. *J Ovarian Res.* 2022;15(1):81. doi:10.1186/s13048-022-01012-1.

- [90] Hassan MK, Waly AA, Elsayed W, Keshk S, Allam WR, El-Khamisy SF. Integrative microRNA and gene expression analysis identifies new epigenetically regulated microRNAs mediating taxane resistance in ovarian cancer. *Sci Rep*. 2021;11(1):562. doi:10.1038/s41598-020-78596-5.
- [91] Zhong Q, Xiong Y, Ling C, Qian Y, Zhao X, Yang H. Enhancing the sensitivity of ovarian cancer cells to olaparib via microRNA-20b-mediated cyclin D1 targeting. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2021;246(11):1297–1306. doi:10.1177/1535370221994077.
- [92] Biegała Ł, Kołat D, Gajek A, Płuciennik E, Marczak A, Śliwińska A, et al. Uncovering miRNA–mRNA regulatory networks related to olaparib resistance and resensitization of BRCA2MUT ovarian cancer PEO1-OR cells with the ATR/CHK1 pathway inhibitors. *Cells*. 2024;13(10):867. doi:10.3390/cells13100867.
- [93] Poinso V, Pizzinat N, Ong-Meang V. Engineered and mimicked extracellular nanovesicles for therapeutic delivery. *Nanomaterials (Basel)*. 2024;14(7):639. doi:10.3390/nano14070639.
- [94] Kliuchnikova A, Gordeeva A, Abdurakhimov A, Materova T, Tarbeeva S, Sarygina E, et al. Ovarian cancer: Multi-omics data integration. *Int J Mol Sci*. 2025;26(13):5961. doi:10.3390/ijms26135961.
- [95] Hamidi F, Gilani N, Arabi Belaghi R, Yaghoobi H, Babaei E, Sarbakhsh P, et al. Identifying potential circulating miRNA biomarkers for the diagnosis and prediction of ovarian cancer using machine-learning approach: Application of Boruta. *Front Digit Health*. 2023;5:1187578. doi:10.3389/fdgth.2023.1187578.
- [96] Stawiski K, Fortner RT, Pestarino L, Umu SU, Kaaks R, Rounge TB, et al. Validation of miRNA signatures for ovarian cancer earlier detection in the pre-diagnosis setting using machine learning approaches. *Front Oncol*. 2024;14:1389066. doi:10.3389/fonc.2024.1389066.