تشخیص
آزمایشگاهی
Tashkhis
Azmayeshgahi
سال سیزدهم
مهر - آبان
۱۳۸۹
شماره ۶۸

# مروری بر Micro RNA به عنوان نسل جدیدی از بیومارکرهای سرطان پستان

**زهرا ریخته گران تهرانی** / دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی همدان
**داود نوری اینانلو** / دانشجوی دکترای ژنتیک مولکولی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

## Abstract:

Malignancies specially breast cancer, are one of the most current and disputable century health care problems. Due to its worldwide prevalence this type of malignancy increasingly draws attention of biological investigators. Novel molecular techniques and biomarker targeting are being interestingly made available to exploit the precise and efficient cancer impact. MicroRNA is one of the biomarkers which attracts scientist's specific research topic of interest. These noncoding small size RNAs containing about 22 nucleotides resulting of their incomparable characteristics may be considered as powerful biomarker, in near future for clinical aims such as breast cancer. In the following mentioned review some aspects on the microRNAs oncological application would be briefly discussed.

## خلاصه :

بدخیمی ها یکی از مشکلات بهداشتی قرن حاضر می باشند و یکی از بحث برانگیزترین انواع سرطان، سرطان پستان است.
این نوع بدخیمی با شیوع بالایی که در سرتاسر جهان به خود اختصاص داده، توجه بسیاری از پژوهشگران علوم زیستی را به سمت خود معطوف نموده است. با افزایش روبه رشد کارآیی تکنیک های ملکولی نوین امکان بهره جستن از بیومارکرهای دقیق و کارآمد در این راستا فراهم شده است.
یکی از انواع بیومارکرهایی که در دهه اخیر توجه چشمگیر دانشمندان را به سوی خود جلب نموده، micro RNAها می باشند. این ملکول ها جزء RNAهای غیر کدکننده با طول کوتاه (حدود ۲۲ نوکلئوتید) هستند و با وجود ویژگی های کم نظیری که در آن ها یافت می شود می توانند در آینده ای نه چندان دور به عنوان یک بیومارکر قوی در عرصه بالینی برای انواع بیماری ها از جمله سرطان پستان مطرح گردند.
طی مطالبی که درپی آمده، مروری اجمالی بر ظرفیت های این ملکول ها با توجه به نیازهای مرتبط با سرطان پستان شده است.

## مقدمه :

سرطان پستان یک بیماری پیچیده است که در آن تغییرات بسیار گسترده ای در روند بیان ژن و ساختار آن به وجود می آید.
این بیماری یک بیماری منفرد محسوب نمی شود بلکه از مجموع چندین زیرمجموعه توموری مهم تشکیل شده است و می تواند در برگیرنده مجراهای حمل کننده شیر و لوبول ها یا غدد شیرساز باشد.
این بیماری شیوع بسیار بالایی داشته و درسرتاسر جهان به عنوان اولین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان دربین زنان محسوب می شود. همین امر باعث برانگیختن تلاش های روزافزون پژوهشگران جهت یافتن بیومارکرهایی قوی در این زمینه شده است.
مطابق تعریفی که توسط موسسه ملی سلامت امریکا

NIH (National Institutes of Health) در سال ۲۰۰۱ ارائه شده «بیومارکر شاخصی است که به عنوان نشانگر فرایندهای پاتولوژیک یا بیولوژیک طبیعی یا پاسخ فارماکولوژیک به مداخلات درمانی، به صورت واقعی قابل ارزیابی و اندازه گیری باشد» [۱].

یکی از دلایلی که بیماری سرطان پستان را به عنوان یک معضل مطرح کرده، نبود یک بیومارکر مناسب است تا بتوان از آن جهت تشخیص به موقع، طبقه بندی و تصمیم گیری صحیح در روند درمانی کارآمد استفاده نمود.

یکی از رویکردهای نوین برای شناسایی و ارائه بیومارکرهای مفید در این زمینه استفاده از ملکول های کوچک RNA یعنی micro RNA ها است. این ملکول ها نقش تنظیمی بسیار مهم و پیچیده ای را در فرآیندهای حیاتی سلول ایفا می کنند.

بنابراین تغییرات آن ها می تواند به پیشروی سلول ها به سمت بدخیمی منجر گردد. ویژگی های منحصر به فرد این ملکول آن را به عنوان یک روزنه امید برای انواع سرطان از جمله سرطان پستان مبدل نموده است.

## انواع بیومارکرها

بر اساس کارآیی می توان بیومارکرها را به انواع مختلفی تقسیم نمود ؛

بیومارکرهای تشخیصی "diagnostic" جهت تشخیص بیماری به کار گرفته می شوند، بیومارکرهایی که کاربرد monitoring دارند قادر به ارزیابی پاسخ به درمان و عود یا پیشرفت بیماری تازه تشخیص داده شده هستند، بیومارکرهای پیش آگهی "prognostic" مشخص کننده سرانجام بیماری تشخیص داده شده بدون در نظر گرفتن نوع خاصی از درمان بوده و بیومارکرهای پیش بینی کننده "predictive" سرانجام پی گیری نوع خاصی از درمان را امکان پذیر می سازند [۲].

با وجود پیشرفت های ملکولی در سال های اخیر امکان آنالیز تغییرات بیوملکول ها طی بیماری ها از جمله سرطان افزایش یافته است. بنابراین امروزه بیومارکرهای ملکولی به یکی از فاکتورهای قابل توجه در این زمینه مبدل شده اند. اما هر بیومارکری نمی تواند قابلیت استفاده در سطح بالینی را به دست آورد مگر آن که دارای ویژگی هایی باشد که آن را به عنوان یک بیومارکر ایده آل مطرح کند [۳] از جمله این ویژگی ها به موارد زیر می توان اشاره نمود:

- اختصاصیت و حساسیت کافی جهت نشان دادن بیماری
- قابلیت اندازه گیری کمی
- قابلیت اندازه گیری سریع، ارزان، دقیق و ساده
- نمونه گیری غیرتهاجمی

بنابراین تلاش پژوهشگرانی که امروزه به بررسی و کشف بیومارکرهای جدید می پردازند، به گونه ای جهت گرفته که بتوانند بیومارکرهایی کارآمد و ایده آل را به جامعه پزشکی معرفی نمایند.

بیومارکرهای ملکولی را در سطوح مختلفی از فرآیندهای سلولی می توان مورد ارزیابی قرار داد. این سطوح شامل ژنوم، ترانس کریپتوم، پروتئوم و گلایکوم می باشد.

ترانسکریپتوم به عنوان یکی از سطوح قابل توجه در این زمینه مطرح است. ترانسکریپتوم در واقع مجموعه رونوشت های RNA از ژنوم در یک زمان مشخص است که کاملا پویا بوده و به واسطه شرایط مختلف سلولی و محیطی تغییر می نماید.

انواع RNA را می توان به دو دسته کلی کدکننده و غیرکدکننده تقسیم نمود. یکی از انواع RNAهای غیرکدکننده micro RNAها هستند، که امروزه توجه بسیاری از پژوهشگران را به سمت خود معطوف نموده اند.

## Micro RNA ملکولی کوچک، با ویژگی هایی بزرگ

Mi(cro)RNAها دسته ای جدید از ملکول های RNA درونزاد غیر کدکننده و کوچک، با طول تنها ۲۵-۱۸ نوکلئوتید، می باشند.

این ملکول های کوچک از زمان کشفشان در سال ۱۹۹۳، نشان داده اند که نقش های تنظیمی حساسی را در طیفی گسترده از فرآیندهای پاتولوژیک و فیزیولوژیک ایفا می نمایند [۴].

توضیح مکانیسم عمل آن ها هنوز در دوره طفولیت خود به سر می برد. با این وجود کار در این حوزه تا به امروز نشان داده است که miRNAها می توانند عملکرد خاموش سازی پس از رونویسی (Post-transcriptional silencing)

را یا از طریق شکست mRNA هدف و یا از طریق ممانعت از سنتز پروتئین به واسطه اتصال به ناحیه غیرترجمه شونده در سمت ۳' از ملکول mRNA هدف، به انجام رسانند[۵].

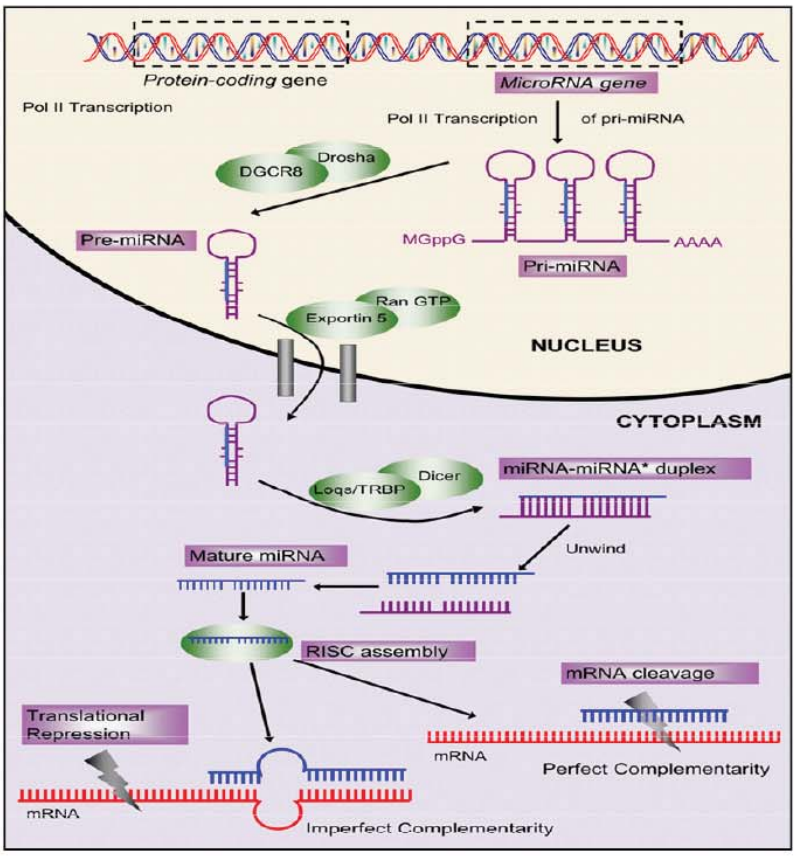
بنابراین این ملکول ها دارای نقشی حیاتی در تنظیم فرایندهای مختلف سلولی از جمله تکثیر، تمایز ، آپوپتوز، رشد ارگان ها و کنترل زمان بندی رشد می باشند.[۶،۷].

بیوژنز miRNAها یک فرایند چند مرحله ای است که در هسته آغاز می شود (شکل ۱). به این صورت که ابتدا ژن های مربوط به miRNA توسط RNA پلی مراز II رونویسی می‌شود [۸]، رونوشت pri-miRNA حاصله دارای دم پلی A در ناحیه ۳' و کلاهک در ناحیه ۵' می باشد.

این ملکول ساختار سنجاق سری شکل داشته و همین ساختار عامل شناسایی آن توسط کمپلکس Drosha-DGCR8 و تبدیل آن به پیشسازpre-miRNA می شود[۹] و سپس این ملکول پیشساز توسط exportin 5 از هسته به سیتوپلاسم منتقل می گردد [۱۰] و در سیتوپلاسم توسط RNase III Dicer به داپلکس های RNA با طول حدود ۲۲ نوکلئوتید می شکند [۱۱].

در مرحله بعد ;

دو رشته پردازش شده miRNA :miRNA وارد کمپلکس خاموش کننده القا شده به واسطه RNA (RNA-induced silencing complex) RISC- شده و یکی از آن ها در این کمپلکس باقی مانده و رشته دیگر تجزیه می شود.




شکل 1. ساخت miRNA طی فرایندی چند مرحله ای در هسته آغاز می گردد. این ملکول ابتدا به صورت پیشسازی با طول حدود ۷۰ نوکلئوتید ساخته شده و مورد پردازش قرار می گیرد. سپس بواسطه ملکول exportin 5 به سیتوپلاسم منتقل گشته و پس از اعمال پردازش نهایی وارد کمپلکس RISC شده و عملکرد تنظیمی خود را بر روی mRNA هدف به انجام می رساند.

پایداری نسبی دو انتهای داپلکس پیشساز miRNA اساس انتخاب رشته ای است که می تواند به کمپلکس RISC متصل بماند، به این شکل که پیشسازی که در انتهای ۵' دارای جفت بازی است که پایداری آن کمتر است ( مثلا G:U در مقابل G:C) بهتر می تواند وارد کمپلکس RISC شده و رشته دیگر به دلیل آزاد ماندن در محیط سرشار از نوکلئاز سیتوپلاسم تجزیه خواهد شد [۱۲،۱۳].

در این مرحله رشته متصل به RISC از طریق جفت شدن ناقص به ناحیه غیرترجمه شونده در سمت ۳'ملکول های mRNA هدف عملکرد تنظیمی خود را یا از طریق ممانعت از ترجمه و یا از راه تجزیه mRNA به انجام می رساند.

انتخاب این که miRNAها کدام روند مهاری را در پیش بگیرند به میزان مکمل بودن نسبت به mRNA هدفشان بستگی دارد. به این ترتیب که اگر دو رشته کاملا مکمل یکدیگر باشند مسیر به سمت شکست mRNA هدف پیش می رود (interference RNA) و اگر دو رشته به صورت نسبی با یکدیگر جفت شوند مسیر ممانعت از ترجمه در پیش گرفته می شود [۱۶-۱۴].

به نظر می رسد که miRNAها و هدف های آن ها شبکه تنظیمی پیچیده ای را سازماندهی می کنند که در آن یک miRNA منفرد قادر به اتصال و تنظیم چندین mRNA مختلف بوده و متقابلاً چندین miRNA مختلف قادر به اتصال و تنظیم یک mRNA منفرد می باشند [۱۷].

محاسبات کامپیوتری به منظور شناسایی هدف های mRNA فرضی گسترش یافته اند. این محاسبات پیش بینی می کنند که هر miRNA می تواند به طور بالقوه تا به ۲۰۰ هدف متصل شود و تخمین زده می شود که miRNAها بیان حداقل یک سوم mRNAهای انسانی را کنترل می کنند. این محاسبات نقش محوری آن ها را به عنوان تنظیم کننده های بیان ژن روشن می نماید [۱۸].

میزان و نوع بیان miRNA نقش بسیار مهمی در تنظیم ترانسکریپتوم مربوط به یک بافت یا سلول معین ایفا می کند[۱۹].

بنابراین بررسی دقیق بیان این ملکول ها می تواند به عنوان ابزاری مهم در مشخص نمودن وضعیت فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک باشد.

## روش های بررسی micro RNA ها

یکی از دلایل کشف روزافزون انواع مختلفی از miRNAها بهبود و ارتقا تکنیک های آزمایشگاهی است.

شناسایی انواع miRNA به دلیل طول کوتاه و شباهت توالی بین اعضاء یک خانواده و تفاوت عملکرد حتی به واسطه اختلاف در یک نوکلئوتید، نیازمند تکنیک های بسیار دقیق و با کارآیی بالا می باشد.

بنابراین تکنیک هایی مانند کلونینگ و نورترن بلاتینگ دارای کفایت لازم جهت بررسی miRNAها نیستند.

یکی از روش های کارآمدی که به این منظور ابداع شده است، مربوط به Castoldi و همکارانش می باشد [۲۰]. آن ها روش نوینی از miRNA microarray را با استفاده از پروب هایی ویژه راه اندازی کرده اند.

این پروب ها به صورت اسیدهای نوکلئیک قفل شده ( LNA ) «Locked Nucleic Acid» می باشند. الیگو نوکلئوتیدهای LNA در واقع الیگونوکلئوتیدهایی اند که حداقل دارای یک واحد اسید نوکلئیک قفل شده باشند. اسیدهای نوکلئیک LNA در ساختمان خود دارای یک پل متیلنی هستند که اکسیژن ۲' حلقه ریبوز را به کربن ۴' آن متصل می کند [۲۱] (شکل ۲)، این وضعیت باعث می شود تا پروب های LNA میل اتصالی بیشتری نسبت به مکمل خود داشته و در نتیجه باعث بالا رفتن حساسیت روش شوند.

در واقع وجود ریشه های LNA در پروب ها منجر به افزایش پایداری حرارتی در دو زنجیره اتصال یافته می گردد[۲۲] به طوری که با این روش دمای melting بین دو زنجیره به ازای هر واحد منومری LNA بین ۲ تا ۱۰ درجه سانتی گراد افزایش نشان خواهد داد [۲۳].

با به کارگیری این تکنیک می توان پروب ها را به گونه ای طراحی نمود که Tm واحدی جهت بررسی مجموعه miRNAهای موجود در سطح ژنوم طی آزمایش به کار گرفته شود، این کار را یا از طریق تنظیم طول پروب ها و یا از طریق تنظیم محتوای LNA موجود در آن ها می توان به انجام رسانید.

با این روش شناسایی انواع miRNA، حتی با اختلاف تک نوکلئوتیدی امکان پذیر شده است.

تکنیک کارآمد دیگری نیز توسط Lu و همکارانش ابداع گردیده است [۲۴]. این تکنیک درواقع یک روش فلوسیتومتری با استفاده از مهره های پلی استیرنی می باشد Bead based Flow Cytometry

که در آن پروب ها به این مهره ها متصل شده اند و هر مهره با ترکیبی انحصاری از دو رنگ مختلف فلورسنت اشباع شده است به طوری که هر رنگ متناظر با یک پروب می‌باشد.

پس از مجاور نمودن miRNA های سلولی با این پروب ها مراحل ترانسکریپتاز معکوس و سپس PCR با استفاده از یک پرایمر واحد و بیوتینیله به انجام می رسد. در مرحله بعد رنگ آمیزی با استفاده از فیکواریترین متصل به استرپتاویدین صورت گرفته و بعد مهره ها با دو روش بررسی می شوند:

۱) فلوسیتومتری که نوع miRNAها را مشخص می کند

۲) بررسی میزان فیکواریترین که فراوانی miRNAهای موجود در نمونه را تعیین می نماید.

این روش از آن جهت کارآمد است که امکان هیبرید شدن miRNA و پروب مرتبط اش را در یک محیط مایع فراهم می آورد و بنابراین ویژگی روش بسیار بالا خواهد بود.

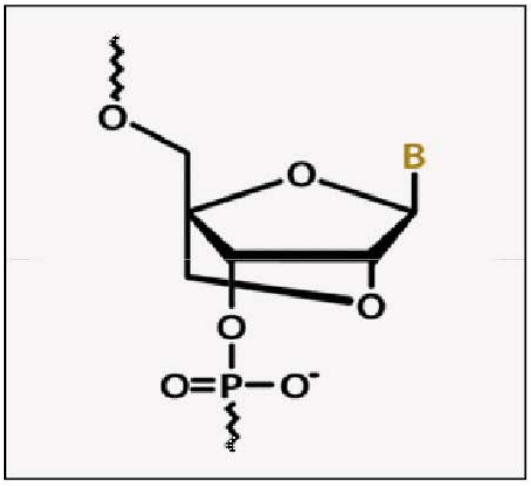
استفاده از بازدارنده های miRNA و مهار فعالیت miRNAهای درونزاد روش دیگری است که به منظور بررسی فعالیت این ملکول ها به کار گرفته شده است.

این کار با استفاده از الیگونوکلئوتیدهای 2-O-methyl تک رشته ای مکمل miRNAها و یا توسط الیگونوکلئوتیدهای LNA و سپس بررسی اثر این بازدارنده ها بر فعالیت miRNAهای مربوطه و در نهایت تاثیرات پایین دست بر بیان mRNAهای تحت کنترل آن ها به انجام می رسد [۲۵،۲۶].

بررسی اثرات مربوط به knockdown ملکول miRNA به واسطه تاثیر بر مورفولوژی و عملکرد سلول های مورد آزمایش قابل مطالعه می باشد. این کار از طریق روش های استاندارد برای بررسی فرآیندهایی نظیر مهاجرت، رگزایی، تکثیر و تهاجم قابل انجام است [۲].

مطالعه اثرات مهاری miRNAها برروی مدل حیوانی به دو صورت امکان پذیر است، یا از طریق انتقال مهارکننده های miRNA به داخل سلول های توموری در محیط کشت و یا از طریق تزریق داخل وریدی آن ها به حیوان آزمایشگاهی.

یکی از مطالعات جالبی که در این زمینه انجام گرفته مربوط به Si و همکارانش می باشد [۲۷]، در این کار الیگونوکلئوتیدهای مکمل miR-21 با روش فاژآلایی "Transfection"، وارد سلول های سرطانی در محیط کشت شده و سپس اثرات مهاری هم در رشد سلول در شرایط in vitro و هم در رشد تومور در موش های گزنوگرافت مشاهده گردید. استفاده از تزریق داخل وریدی آنتاگومیرها "antagomirs" نیز در همین راستا به انجام رسیده است، آنتاگومیردرواقع آنالوگ RNA تک رشته ای همراه با کلسترول است که مکمل miRNA می باشد، این الیگونوکلئوتیدها به واسطه تغییرات شیمیایی در ساختارشان پایداری و قدرت اثر بیشتری دارند و همچنین بخش کلسترول در انتهای ۳' آن ها انتقالشان را به داخل سلول بهبود می بخشد [۲۸].




شکل2. اختلاف اساسی بین منومرهای LNA و منومرهای معمول اسید نوکلئیکی وجود یک پل اکسی متیلنی بین اکسیژن کربن 2' و کربن4' حلقه ریبوزی می باشد. بواسطه وجود این ساختار الیگونوکلئوتیدهای حاوی LNA پایداری حرارتی بالاتری نسبت به مکمل خود خواهند داشت. .

## Micro RNA و سرطان

همان طور که پیش از این اشاره شد مطالعات مختلف بر روی miRNAها مشخص کننده نقش آن ها در فرآیندهای مختلف سلولی نظیر تکثیر، تمایز، آپوپتوز و رشد می باشد یعنی همان فرآیندهایی که اختلال و بی نظمی در آن ها منجر به بروز سرطان می گردد و این امر مبین نقش حیاتی آن ها در سرطان زایی است. اولین گزارش تجربی مبنی بر وجود ارتباط بین miRNAها و سرطان توسط Calin و همکارانش در سال ۲۰۰۲ منتشر گردید [۲۹]

در این بررسی مشاهده شد که دو ژن miRNA یعنی miR-16 و miR-15 در ناحیه ای از کروموزوم ۱۳ واقع شده اند که این ناحیه در ۶۵٪ افراد مبتلا به لوسمی لمفوسیتی مزمن (CLL) حذف شده است.

هم تنظیم مثبت و هم تنظیم منفی بیان miRNA ها در سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های طبیعی مشاهده شده است و این نشان دهنده نقش دوگانه آن ها در سرطان زایی است، یعنی miRNAها می توانند به عنوان بازدارنده های تومور "Tumor Suppressors" و هم به عنوان انکوژن عمل کنند، که در حالت اخیر به آن ها oncomir گفته می شود.

از طرفی نشان داده شده است که ژن های مربوط به miRNAها در ژنوم به صورت غیرتصادفی پخش شده اند و تعداد قابل توجهی از این ژن ها در نواحی ژنومی مرتبط با کانسر یعنی محل های شکننده (Fragile Sites) واقع شده اند. این نواحی قسمت هایی ناپایدار از ژنوم هستند که به ناپایداری DNA در سلول های سرطانی منجر می شوند [۳۰]. این موضوع ارتباط پررنگ microRNAها را با سرطان زایی مشخص می نماید.

نکته جالب توجه دیگری که در ارتباط با miRNAها وجود دارد توانایی آن ها در رده بندی دقیق سلول های سرطانی بسیار کم تمایزیافته است و این قابلیتی است که توسط الگوی بیان mRNAها امکان پذیر نمی باشد [۳۱].

این ویژگی miRNAها از اهمیت بالینی بسیار بالایی برخوردار است، زیرا امکان تشخیص نوع سلول های سرطانی با مبدا هیستولوژیک نامعین برای تعیین مسیر درمانی بسیار حیاتی است. مهم تر آن که miRNAها می توانند تا حد قابل قبولی در بافت های فیکس شده در فرمالین به صورت سالم باقی بمانند ]۳۲].

## Micro RNA و سرطان پستان

سرطان پستان در حال حاضر به یکی از معضلات بهداشتی تبدیل شده است، هر ساله حدود ۱/۳ میلیون زن در سرتاسر دنیا به سرطان پستان مبتلا می شوند.

مطابق آمار منتشره از سوی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران در سال ۱۳۸۵، سرطان پستان رتبه اول بدخیمی ها در زنان ایرانی است، به طوری که میزان آن در سال ۱۳۸۵ برابر ۶۴۵۶ مورد بوده که معادل حدود ۲۵٪ سرطان های تشخیص داده شده زنان می باشد [۳۳].

همچنین آمارها نشان می دهند این بیماری عامل ۱۵٪ مرگ های ناشی از سرطان در زنان امریکایی در سال ۲۰۰۷ بوده است [۳۴]. این در حالی است که درمان این بیماری در صورت تشخیص به موقع با موفقیت بسیار همراه خواهد بود.

بنابراین آن چه که مدیریت این بیماری پیچیده را به چالش کشانده عدم وجود بیومارکری مفید و کارآمد برای تشخیص بیماری در مراحل اولیه است. در سال های اخیر به واسطه پیشرفت های به وجود آمده در زمینه تکنیک های ملکولی، تعیین فنوتایپ و پروفایل ملکولی کانسرها از جمله کانسر پستان، کمک شایانی به تشخیص و طبقه بندی ملکولی این نوع بدخیمی شده است. یکی از کارهای قابل ذکری که در این زمینه انجام گرفته، طبقه بندی ملکولی سرطان پستان بر اساس وضعیت گیرنده های سطح سلولی می باشد.

به این صورت که انواع بدخیمی های بافت پستانی را براساس نوع گیرنده های استروژن ER، پروژسترون PR و فاکتور رشد اپیدرمال انسانی neu/HER2، طبقه بندی می نمایند. در واقع این بیومارکرها به عنوان مارکرهای پیش آگهی و پیش بینی کننده جهت تعیین سیر درمان به کار گرفته می شوند، همچنین براساس نوع گیرنده های سلولی تفاوت چشمگیری را در شرایط بیمار می توان مشاهده نمود[۳۷-۳۵].

کارهای گسترده ای در زمینه بررسی الگوی بیان miRNAها نیز به انجام رسیده است که از میان آن ها می توان به مطالعه انجام شده توسط Iorio و همکارانش [۳۸] اشاره نمود. در این بررسی ۲۹ ملکول مختلف miRNA شناسایی شده است که میزان بیان آن ها بین بافت سرطانی و بافت سالم پستان اختلاف چشمگیری وجود دارد. همچنین توسط آن ها مجموعه ای از ۱۵ نوع miRNA مشخص شده است که می توانند بین بافت توموری و نرمال تمایزی دقیق ایجاد نمایند.

با توجه به این پیشرفت ها و نیازهای روزافزون بالینی، می توان پیش بینی نمود که الگوی بیان miRNAها می تواند در آینده به عنوان بیومارکری حساس برای سرطان پستان وارد عرصه بالینی شود.

یکی از ویژگی های جالب miRNAها پایداری و قابلیت پی گیری آن ها در جریان خون است، که آن ها را به عنوان بیومارکری با حداقل تهاجم مطرح می سازد [۳۹،۴۰]. بنابراین می توان انتظار داشت در آینده نزدیک با یافتن الگوی مناسب و مرتبط با سرطان پستان توسط miRNAهای در گردش، مشکل مدیریت این بیماری در زمینه تشخیص، پیگیری، پیش بینی و پیش آگهی کمتر گردد.

## ظرفیت درمانی ملکول های microRNA در سرطان پستان

با توجه به این که میزان بیان miRNAها طی کانسر دستخوش تغییرات قابل ملاحظه ای می شود، می توان با استفاده از روش هایی که قادرند وضعیت سلول ها را به لحاظ محتوای miRNA به حالت طبیعی برگردانند، انتظار درمان بدخیمی را داشت. درواقع درصورتی که ایجاد بدخیمی به واسطه افزایش بیان oncomirها صورت گرفته باشد، می‌توان با استفاده از انتقال الیگونوکلئوتیدهای تغییریافته مکمل oncomir مورد نظر به اهداف درمانی دلخواه دست یافت.

در یکی از بررسی های جالبی که در این زمینه صورت گرفته است [۲۷] پژوهشگران با مشاهده افزایش بیان miR-21 در سلول های کانسری پستان سعی در استفاده از الیگونوکلئوتیدهای مکمل این نوع miRNA تحت عنوان Anti miR-21 نموده و توانستند اثر مهاری این نوع درمان را در رده سلولی MCF-7، به صورت in vivo و in vitro با موفقیت نشان دهند.

آن ها همچنین اثبات نمودند که این روش می تواند اثر درمانی ماده ضد سرطان Topotecan را به نحو چشمگیری افزایش دهد. در واقع Anti miR-21 قادر به حساس نمودن سلول ها نسبت به عوامل ضد سرطانی شناخته شده است. در این کار مشخص شد که Anti miR-21 اثر خود را به واسطه کاهش تکثیر سلولی، افزایش آپوپتوز و کنترل منفی بیان پروتئین ضد آپوپتوزی BCL2 اعمال می کند.

برعکس می توان با استفاده از القاء ویروسی یا لیپوزومی فرم سنتتیک miRNAهایی که نقش بازدارنده تومور را دارند، میزان پروتئین های انکوژن تحت کنترل آن ها را تنظیم نموده و از این طریق به ممانعت از پیشرفت یا حتی کوچک شدن تومور دست یافت.

یکی از بررسی های به عمل آمده در این راستا بر روی رده سرطانی SKBR3 صورت گرفته است [۴۱] در این رده بیان پروتئین های انکوژن ERBB2 و ERBB3 افزایش پیدا می کند.

با انجام بررسی های بیوانفورماتیکی مشخص گردید که بیشترین امکان جفت شدن بین نواحی 3'-UTR این پروتئین ها با دو نوع microRNA تحت عنوان miR-125a و miR-125b وجود دارد.

پس از انتقال رتروویرال این دو ملکول miRNA میزان بیان این انکوژن ها در دو سطح رونویسی و ترجمه کاهش یافته و در نتیجه به مهار رشد، مهار حرکت و کاهش توان تهاجم این رده از سلول های سرطانی پستان منجر شده است.

این یافته ها امکان استفاده از miRNAها را در درمان به واسطه مهار بیان و عملکرد انکوژن ها نشان می دهد.

## نتیجه‌گیری

microRNAها،ملکول های پرتوانی هستند که به علت اندازه کوچکشان تا همین اواخر کشف نشده باقی مانده بودند.

این ملکول ها در مراحل شروع و پیشرفت بدخیمی ها در معرض تغییرات چشمگیری قرار می گیرند که همین امر سبب گردیده تا بتوان از آن ها به عنوان ابزاری مناسب در جهت بهبود و تغییر روش های کنونی تشخیص و درمان این بیماری بهره برداری نمود.

با ارتقا تکنولوژی و در نتیجه افزایش دانش ما در ارتباط با miRNAها و عملکرد سیستماتیک آن ها در سلول و شناسایی انواع جدیدی از این ملکول ها می توان نقش این بیومارکرها را در سرطان زایی بهتر درک نمود و با استفاده از پتانسیل بالقوه آن ها عصری نوین را در مداخلات درمانی رقم زد.

## References:

[1] De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL, Downing GJ, Ellenberg SS, Friedman L, Gail MH, Prentice R, Wittes J, Zeger SL. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials: Summary of a National Institutes of Health workshop.

[2] C. Carl Jaffe, MD. Pathology and imaging in biomarker development. (2009) Pathology and Imaging in Biomarker Development. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: Vol. 133, No. 4, pp. 547-549.

[3 ] S. Bodovitz and S. Patterson, Protein biomarker strategies, Drug Discovery World, Fall (2003), pp. 67-78.

[4] H. M. Heneghan, N.Miller, A. J. Lowery, K. J. Sweeney, and M. J. Kerin. MicroRNAs as Novel Biomarkers for Breast Cancer. Department of Surgery, Clinical Science Institute, National University of Ireland, Galway, Ireland. 2009

[5] R. J. Jackson and N. Standart, "How do microRNA's regulate gene expression?" Science's STKE, vol. 367, no. 1, 2007.