

A Review of the Function of Circulating Cell Free miRNAs as Promising Biomarkers in Cancer Diagnosis, Treatment, and Metastasis

Maryam Zand¹,
Mahdiah Mondanizadeh²

¹ MSc in Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

² Assistant Professor, Department of Biotechnology and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

(Received July 18, 2021 ; Accepted January 24, 2022)

Abstract

Cell Free miRNAs are small, non-coding molecules that can be secreted into the bloodstream in very stable forms. These types of miRNAs, like intracellular miRNAs, participate in the control of many biological processes and are expressed in both natural and pathological conditions. Quantitative and qualitative changes in expression of circulating miRNAs are associated with the onset and progression of cancer, but can be easily detected by some molecular biology methods. The most common methods for diagnosis, prognosis, and treatment of most cancers are aggressive, so finding accurate and non-invasive methods for early diagnosis, monitoring and control of cancer are essential. The circulating miRNAs affect not only cells near the site of secretion but also distant tissues, so, they can lead to cancer progression. Herein, we examined studies based on the identification of circulating miRNAs as non-invasive diagnostic biomarkers, prognostic, and of course important for the treatment of various types of cancers.

Keywords: circulating miRNAs, cell free miRNAs, cancer, metastasis, treatment

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 31 (206): 160-177 (Persian).

* **Corresponding Author:** Mahdiah Mondanizadeh- Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
(E-mail: m_mondanizadeh@yahoo.com)

مروری بر عملکرد Circulating Cell Free miRNA به عنوان بیومارکرهاي امید بخش در تشخیص، درمان و ردیابی سرطان

مریم زند¹

مهديه موندنی زاده²

چکیده

میکرو RNA های گردش (Cell Free miRNA)، مولکول های کوچک غیر رمز کننده ای هستند و می توانند در گردش خون به اشکال بسیار پایدار ترشح شوند. این نوع از miRNA ها همانند miRNA های داخل سلولی، در کنترل بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی شرکت و ایفای نقش می کنند و در هر دو شرایط طبیعی و پاتولوژیک بیان می گردند. تغییرات کمی و کیفی در میزان بیان miRNA های گردش با شروع و پیشرفت سرطان در ارتباط است و به راحتی با برخی روش های زیست شناسی مولکولی قابل تشخیص است. از آنجایی که رایج ترین روش ها برای تشخیص، پیش آگهی و درمان اغلب سرطان ها دارای ماهیت تهاجمی اند، بنابراین یافتن روش های دقیق و غیرتهاجمی جهت تشخیص اولیه، پایش و کنترل سرطان امری ضروری به نظر می رسد. با عنایت به این که miRNA های گردش نه تنها سلول های نزدیک محل ترشح بلکه بافت های دور را نیز تحت تاثیر قرار می دهند، می توانند با وجود چالش های متعددی در این زمینه منجر به پیشرفت سرطان شوند. از این رو این مطالعه در تلاش برای ترسیم مکانیسم هایی است که به نقش حیاتی miRNA های گردش به عنوان بیومارکرهاي غیرتهاجمی و پیش آگهی دهنده و همچنین موثر در جهت درمان و تشخیص زودهنگام در انواع مختلف سرطان اشاره دارد.

واژه های کلیدی: miRNA گردش، Cell Free miRNA، سرطان، متاستاز، درمان

مقدمه

خوبی در تشخیص زود هنگام و درمان سرطان حاصل شده است (2). از روش های غیرتهاجمی که امروزه برای تشخیص به موقع و سریع سرطان ها به کار می رود، می توان به بررسی بیان میکرو RNA های گردش (Cell Free miRNA) در سرم یا پلاسماي افراد اشاره کرد. آن ها RNA های کوچک غیر کد کننده با طولی حدود 22 نوکلئوتید هستند و بیورنشان در هسته سلول شروع و توسط RNA پلیمراز II به فرم miRNA های اولیه

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است و پس از بیماری های قلبی عروقی داری بیش ترین آمار مرگ و میر می باشد. این عارضه معمولاً در اثر نقص در عملکرد مکانیسم های تنظیمی فرایند رشد و تقسیم سلولی ایجاد می شود (1). کاهش مرگ و میر، افزایش بقا، بهبود بیماران، تشخیص سریع و به دنبال آن درمان های به موقع و خاص کلید موفقیت در درمان سرطان می باشد. در سال های اخیر پیشرفت های بسیار

E-mail: m_mondanizadeh@yahoo.com

مؤلف مسئول: مهديه موندنی زاده - اراک: دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی

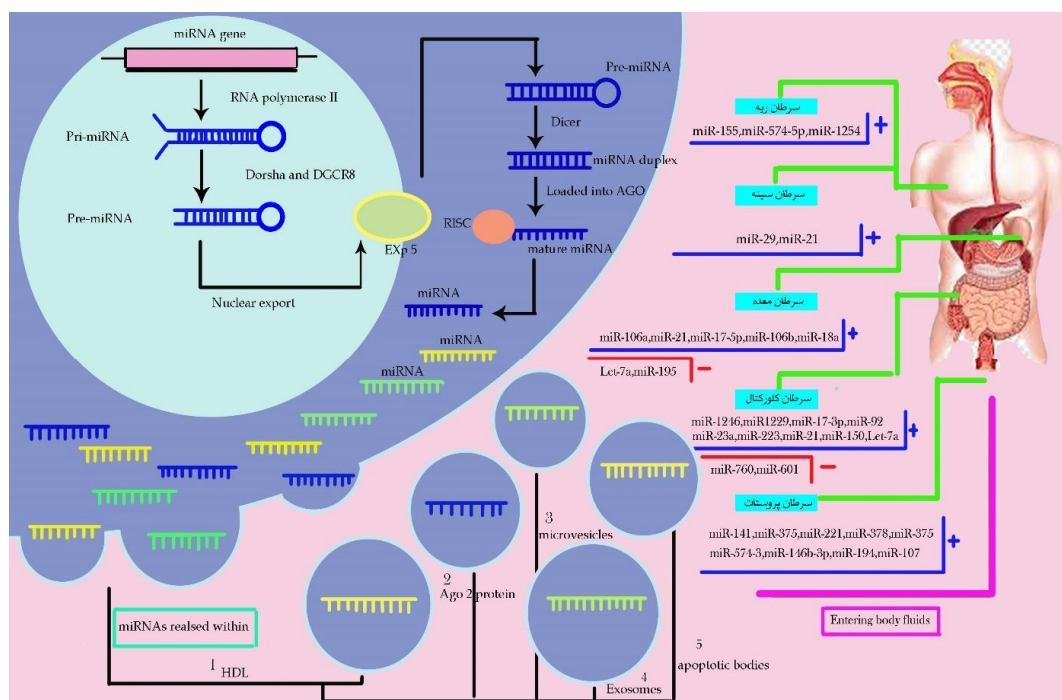
1. کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

2. استادیار، گروه پزشکی مولکولی و زیست فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: 1400/4/27 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1400/5/18 تاریخ تصویب: 1400/11/4

(وزیکول)، ترکیب با برخی پروتئین‌ها و یا با قرارگیری در ذرات آگزوزومی به صورت منظم و هدفمند ترشح می‌شوند. در شرایط سلامت و پایدار miRNA های گردش در مایعات بدن به صورت ثابت، منظم و با الگوی بیانی خاص ترشح می‌شوند. اما هرگونه تغییرات فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک مانند سرطان، التهاب، عفونت و اختلالات خودایمنی می‌تواند باعث تغییر الگوی بیان و ترشح آن‌ها در مایعات شود (تصویر شماره 1) (8). اگر چه دانش، در رابطه با miRNA های خارج سلولی هنوز در سطح مقدماتی است ولی اکتشافات اخیر میکرو RNA های گردش (Cell Free miRNA) موجود در مایعات بدن اکنون به عنوان بیومارکرهای مهمی در نظر گرفته شده‌اند که ممکن است در تشخیص زودهنگام سرطان‌های مختلف به ما کمک کنند (9). از این رو با توجه به اهمیت و کاربرد miRNA های گردش در علوم کاربردی و تشخیصی بالینی، این مطالعه با هدف، توصیف و بررسی مطالعات انجام گرفته بر روی نقش این عوامل مولکولی در مسیر پاتوژنز چندین سرطان، انجام پذیرفت.

رونویسی می‌شوند. در ادامه miRNA های اولیه در هسته به وسیله آنزیم Drosha و pasha برش خورده و به فرم pre-miRNA ها تبدیل می‌گردند. سپس به وسیله اکسپورتین -5 به هسته به سیتوپلاسم منتقل و توسط آنزیم Dicer به miRNA بالغ دو رشته‌ای تبدیل می‌شوند. سپس با اتصال به ناحیه 3' UTR-mRNA ژن‌های هدف یا از فرآیند ترجمه ممانعت کرده و یا منجر به القای تخریب mRNA می‌گردد. بدین شیوه و در نهایت منجر به کنترل بیان ژن پس از رونویسی می‌شود و نقش اساسی خود را در بیولوژی سلول در تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی ایفا می‌کند (تصویر شماره 1). در سرطان miRNAs ها دو نقش آنکوژنی و مهارکننده‌ی توموری را از خود بروز می‌دهند (3-6). امروزه مشخص شده است، بسیاری از miRNA های درون سلول و یا بافت‌ها، به صورت خارج سلولی و در تمام مایعات بدن پستانداران مانند پلاسما، بزاق، ادرار، شیر، پلاسما منی، اشک و مایع آمنیوتیک یافت می‌شوند (7). در واقع این عوامل مولکولی به صورت آزاد، بسته‌بندی در غشاهای دولایه



تصویر شماره 1: بیوژنز و تغییر بیان miRNA های گردش در سرطان‌های ریه، سینه، معده، کولرکتال و پروستات

بیوژنز miRNA ها در هسته سلول انجام و توسط RNA پلیمراز II به فرم miRNA های اولیه رونویسی می شوند، در ادامه این miRNA های اولیه در هسته به وسیله آنزیم Drosha و pasha برش خورده و به pre-miRNA ها تبدیل می شوند. سپس به وسیله اکسپورتین 5- از هسته به سیتوپلاسم منتقل می گردد و توسط آنزیم Dicer به miRNA بالغ دو رشته ای تبدیل می شوند که این عوامل مولکولی گردشی ای به 1: لیپوپروتئین های با چگالی بالا (HDL)، 2: پروتئین هایی مانند Ago2 متصل می گردند و یا در وزیکول های خارج سلولی با توجه به نحوه ساخت و منشا به سه فرم، 3: میکرووزیکول، 4: اگزوزوم، 5: اجسام آپوتوزی قرار می گیرند. همچنین، تغییرات فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک مانند سرطان می تواند باعث تغییر الگوی بیان و ترشح miRNA ها در مایعات شود.

میکرو RNA های خارج سلولی (ECmiRNAs: Extracellular miRNAs)

مطالعات صورت گرفته حاکی از وجود miRNA هایی با عنوان miRNA گردشی یا خارج سلولی در محیط خارج سلولی است. این miRNA ها نه تنها در سرم بلکه در انواع مایعات زیستی خارج سلولی از جمله بزاق، اشک، ادرار، شیر مادر، آغوز، مایع صفاقی، مایع مغزی نخاعی، مایع منی و مایع فولیکولار نیز وجود دارند (10). علاوه بر این miRNA های خارج سلولی به طور قابل توجهی در مایعات بدن پایدار هستند و می توانند تحت شرایط نامساعد برای مدت طولانی زنده بمانند. از آنجاکه miRNA های محافظت نشده به تخریب توسط RNases موجود در خون به شدت حساس هستند، تصور می شود که این عوامل مولکولی در گردش به پروتئین ها مانند آرگونات 2 (Ago2) یا لیپوپروتئین های با چگالی بالا متصل شوند و یا در وزیکول های خارج سلولی (Extracellular vesicles: EV) محصور می گردند، تا بدین وسیله از تخریب توسط RNase در امان بمانند (11-13). در واقع وزیکول های خارج سلول یک مجموعه ناهمگن از ذرات غشادار

آزاد شده از سلول ها هستند و تصور می گردد که به دو صورت انتشار وزیکول های مشتق شده از اندوزوم و همجوشی با غشای پلاسمایی و آزاد شدن از سلول به صورت مستقیم تولید می شوند (14). به طور کلی، وزیکول های خارج سلولی با توجه به نحوه ساخت و منشا به سه فرم اگزوزوم، میکرووزیکول و اجسام آپوتوزی دیده می شوند. اگزوزوم ها دارای منشأ اندوزومی و به صورت وزیکول های داخل لومنی هستند و در نهایت از طریق ادغام با غشای پلاسمایی، آزاد می گردند. آن ها می توانند حاوی میکرو RNA ها، mRNA، DNA و پروتئین های سیتوپلاسمی، غشایی و لیپید باشند و سایزی بین 30-120 نانومتر دارند. میکرووزیکول ها (MVs) در واقع وزیکول های ناهمگنی از وزیکول های خارج سلول با اندازه ای حدود 100 تا 1000 نانومتر هستند. این وزیکول ها توسط جوانه زدن و جدا شدن از غشای سلول ها به فضای خارج سلولی آزاد می شوند. اجسام آپوتوزی از سطح سلول هایی که دچار آپوتوز شده به صورت برآمدگی ایجاد و خارج می گردند و حاوی قطعات DNA و اندامک ها هستند و بزرگترین وزیکول ها از نظر اندازه اند (15). مطالعات حاکی از وجود miRNA های خارج سلولی به دو شکل وزیکولار (miRNA هایی که درون وزیکول هایی مانند اگزوزوم، میکرووزیکول یا اجسام آپوتوتیک یافت می شوند) و غیر وزیکولار (miRNA هایی که به عنوان بخشی از مجتمع های پروتئینی متصل به RNA آزاد هستند) می باشد (16). اگرچه قبلاً تصور می شد که انتشار وزیکول های خارج سلولی مکانیزمی برای دور انداختن اجزای سلولی غیر عملکردی است، اما امروزه عملکرد آن ها در فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک به اثبات رسیده و این امر به طور قطع به توانایی وزیکول های خارج سلولی در اتصال به سلول های گیرنده برای رساندن محتویات پروتئینی، لیپیدی و miRNA ایی آن ها وابسته است. در واقع در سطح این وزیکول ها مولکول های سطحی وجود دارند که از این طریق به گیرنده های سطح سلول هدف متصل و در اثر اتصال این گیرنده و

لیگاند به یکدیگر، سیگنالی ایجاد می‌گردد و در پی آن اندوسیتوز، فاگوسیتوز و یا حتی فیوز شدن غشای وزیکول‌های خارج سلول با غشای سلول هدف صورت می‌پذیرد و بدین‌وسیله محتویات خود را همچون miRNA ها، به سیتوزول سلول‌های هدف انتقال می‌دهند و منجر به تغییر در بیان ژن‌های سلول‌های هدف می‌شوند (14، 17). به عنوان مثال دود سیگار باعث افزایش بیان miR-210 اگزوزومی در سلول‌های اپیتلیال برونش اولیه (قسمتی از دستگاه تنفسی است که بین نای و نایزک‌ها قرار گرفته است) انسان می‌گردد. در واقع miR-210 با هدف قرار دادن ژن *ATG7* فرآیندهای اتوفاژی را تنظیم و منجر به افزایش تمایز فیروبلست‌های ریه به میوفیروبلست می‌گردد و بدین‌گونه موجب سرطان ریه خواهد شد (18). با توجه به مطالب ذکر شده، بدیهی است که miRNA ها به‌طور فعال از سلول‌ها ترشح می‌شوند و نقش مهمی در ارتباطات بین سلولی دارند و پاسخگوی این واقعیت هستند که چرا و چگونه پروفایل‌های miRNA گردشی، وضعیت فیزیولوژیکی و پاتولوژیک یک فرد را نشان می‌دهند و می‌توانند احتمالا به عنوان بیومارکرهای امیدوارکننده برای تشخیص و حتی درمان بیماری‌های مختلف به حساب آیند.

نقش miRNA های گردشی در پیش‌آگهی و تشخیص سرطان اولین miRNA گردشی در سال 2008 به عنوان یکی از ابزارهای تشخیصی بالقوه در مبحث آنکولوژی گزارش شد و بعد از آن استفاده از این عوامل مولکولی در گردش در مقالات علمی به عنوان فاکتورهای تشخیصی، پیش‌آگهی یا پیش‌بینی‌کننده سرطان رشد گسترده‌ای داشته است (19). همچنین با توجه به متفاوت بودن سطوح بیان miRNA های گردشی خون بین بیماران سرطانی و افراد سالم، می‌توان با بررسی و مقایسه میزان بیان آن‌ها در دو حالت مذکور برای تشخیص بیماران سرطانی از افراد سالم بهره جست. از این رو با توجه به ثبات بالای miRNA های گردشی در مایعات بدن و دسترسی به آن‌ها

با کمک روش‌های غیرتهاجمی همچون خونگیری، آن‌ها به عنوان بیومارکرهای ایده‌آل برای تشخیص و پیش‌آگهی سرطان محسوب می‌گردند (20). لذا، در این بخش از مطالعه به بررسی نقش چندین نمونه از miRNA های گردشی به عنوان بیومارکرهای تشخیصی و پیش‌آگهی در سرطان‌های ریه، پستان، پروستات، کلورکتال، معده، کبد و خون پرداخته شده است. سرطان ریه شایع‌ترین سرطان در سراسر جهان است که سالانه موجب مرگ بیش از 1,37 میلیون نفر می‌شود. در حال حاضر هیچ روش غربالگری معتبر یا مقرون به صرفه‌ای برای سرطان ریه وجود ندارد. لذا با توجه به مزایای تشخیصی miRNA های گردشی، می‌توان از آن‌ها به عنوان گروهی از بیومارکرهای ایده‌آل برای تشخیص سرطان ریه استفاده نمود. مطالعات زیادی در جهت به کارگیری miRNA های در گردش برای غربالگری سرطان ریه به انجام رسیده است (20). در این جا، عمدتاً بر سرطان ریه سلول بزرگ (Non-small cell lung carcinoma : NSCLC)، متداول‌ترین نوع سرطان ریه، تمرکز شده است. در سال 2008 چن و همکاران اولین مطالعه را در رابطه با miRNA های گردشی در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول بزرگ انجام دادند. در این مطالعه به بررسی نقش miR-25 و miR-223 در پیشرفت بدخیمی و به عنوان بیومارکرهای تشخیصی پرداخته شده است (21). از آن‌جا که درمان زود هنگام سرطان ریه، با افزایش 92 درصد میزان بقای این بیماران همراه است، miRNA های گردشی می‌توانند به عنوان یک بیومارکر پیش‌آگهی‌دهنده در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول بزرگ عمل کنند (22). همچنین در سرطان ریه سلول بزرگ، میزان بیان miR-1254 و miR-574-5p نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و با استفاده از این دو بیومارکر، محققان توانستند نمونه‌های تومور را نسبت به گروه کنترل با حساسیت و اختصاصیت به ترتیب 82 و 77 درصد تشخیص دهند (23). برخی مطالعات از miRNA های گردشی به عنوان بیومارکرهایی

پیشرفته پروستات استفاده شود (11). به علاوه جان و همکاران در سال 2011، اثبات کردند، با توجه به افزایش قابل توجه میزان بیان miR-375 و miR-141 در نمونه بافت پروستات، می توان از این دو مولکول به عنوان بیومارکرهای تشخیصی برای سرطان پروستات با خطر بالا بهره جست (31). از سویی دیگر مشخص شد، افزایش سطح پلاسمایی miR-221 در بیماران مبتلا به سرطان پروستات می تواند به عنوان یک بیومارکر جهت پیش بینی بدخیمی در این بیماران استفاده شود (32). مطالعات پیشین حاکی از افزایش چشمگیر میزان سطح سرمی miR-375، miR-378 و miR-141 در بیماران مبتلا به سرطان پروستات پیشرفته (Castrate-resistant prostate cancer: CRPC) در مقایسه با بیماران مبتلا به سرطان پروستات کم خطر می باشد (33). مطالعات تاونلی و برت در سال 2013 حاکی از افزایش میزان بیان سطح سرمی miR-146b-3p و miR-194 همزمان با پیشرفت بیماری سرطان پروستات بود، بدین ترتیب شواهد نشان از استفاده از miR-146b-3p به عنوان بیومارکر پیش آگهی می باشد (34). لازم به ذکر است، miR-107 و miR-574-3p در ادرار مردان مبتلا به سرطان پروستات در مقایسه با گروه کنترل به میزان قابل توجهی بالاتر است (35).

براساس مطالعات انجام شده در سال های اخیر امکان استفاده از miRNA های گردشی به عنوان بیومارکرهای تشخیصی و پیش آگهی دهنده سرطان روده بزرگ (Colorectal cancer: CRC) به اثبات رسیده است. اولین مطالعه در این زمینه با مقایسه پروفایل بیانی miRNA های موجود در بافت و پلازما در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ انجام شد. در این مطالعه میزان بیان سطح بافتی و پلاسمایی miR-17-3p و miR-92 در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ نسبت به نمونه های افراد سالم (گروه کنترل) به طور قابل توجهی افزایش داشت. همچنین در این مطالعه گزارش شد، miR-92 می تواند به عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی تمایزی برای تشخیص سرطان روده بزرگ از سرطان معده و بیماری التهاب روده

برای بررسی، نظارت بر پاسخ به درمان و همچنین تشخیص سلول های طبیعی از سلول های سرطانی پستان استفاده کردند. به عنوان نمونه، راک و همکاران در سال 2010 نشان دادند که miR-155 گردشی، در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان افزایش می یابد (24). علاوه بر این برخی مطالعات حاکی از کارایی miR-155، miR-145 و miR-182 در تشخیص سرطان پستان با حساسیت و اختصاصیت بالا می باشد (25). از سویی دیگر در مطالعه ای در سال 2013 گزارش شد، بیان همزمان miR-145 و miR-451 می تواند برای تشخیص و تمایز سرطان پستان از سایر سرطان های روده بزرگ، سلول های کبدی و ریه استفاده کرد (26). میزان بیان miR-21 و miR-29 به طور قابل توجهی در سرم بیماران مبتلا به سرطان پستان افزایش می یابد و می تواند به عنوان بیومارکرهای مفیدی برای تشخیص این سرطان محسوب گردند (23). همچنین قابل ذکر است، در سرم و پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با گروه کنترل (افراد سالم) میزان بیان سایر miRNA های گردشی همانند miR-195، miR-21، miR-1، miR-92a، miR-133a، miR-133b، miR-484، miR-127-3p، miR-376a و miR-652 به طور قابل توجهی تغییر داشته است (27-30). شایان ذکر است در سال 2008 میچل و همکاران استفاده از miRNA های گردشی را به عنوان مارکرهای تشخیصی بالقوه سرطان پروستات (Prostate cancer: PC) برای اولین بار گزارش کردند. در این مطالعه، آن ها نشان دادند miRNA های مشتق شده از تومور اولیه، در پلاسمای موش مبتلا به سرطان پروستات قابل شناسایی است. مطالعات آن ها حاکی از افزایش میزان بیان miR-141 در سرم افراد مبتلا به سرطان پروستات نسبت به افراد کنترل بود. جالب توجه است، سطح سرمی بالای بیان این miRNA با سطح بیان آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) سرم به شدت در ارتباط بوده و با توجه به حساسیت 60 درصد و اختصاصیت 100 درصد این بیومارکر، می تواند برای شناسایی افراد مبتلا به سرطان

استفاده شود (36). تا به امروز براساس تحقیقات گسترده در میان بیماران مبتلا به مراحل اولیه سرطان روده بزرگ، میزان بیان پلاسمایی miR-29a و miR-92 افزایش و میزان بیان پلاسمایی miR-601 و miR-760 به طور قابل توجهی در مقایسه با افراد سالم کاهش می یابد (37). علاوه بر این، هیروکو و همکاران در سال 2014 گزارش کردند، هفت miRNA (miR-1229, let-7a, miR-23a, miR-223, miR-21, miR-150, miR-1246) در بیماران سرطان روده بزرگ در مراحل اولیه نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجهی افزایش داشته است (38). از آنجایی که تشخیص زودهنگام سرطان در مراحل اولیه می تواند از مرگ و میر ناشی از سرطان روده بزرگ جلوگیری نماید، تشخیص زودهنگام این سرطان برای کاهش میزان مرگ و میر از اهمیت بالایی برخوردار است. از این رو می توان به اهمیت miRNA ها به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص سرطان کلورکتال در مراحل اولیه اشاره کرد (36,39).

سرطان معده (Gastric cancer: GC) دومین علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان است (40). با این وجود، در حال حاضر تعداد کمی بیومارکر تشخیصی خاص برای شناسایی سرطان معده در دسترس است. اولین مطالعه در مورد بررسی میزان بیان miRNA های گردشی در بیماران مبتلا به سرطان معده در سال 2010 توسط Tsujiura و همکاران صورت گرفت (41). در این مطالعه، براساس یافته های قبلی در نمونه های بافتی سرطانی معده مشخص شد، چهار miRNA (miR-17-5p, miR-21, miR-106a و miR-106b) به طور قابل توجهی در پلاسمای خون بیماران مبتلا به سرطان معده نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، در حالی که سطح کلی let-7a کاهش قابل توجهی را نشان داد. جالب توجه است، سطوح بیانی miR-21 و miR-106b در این بیماران به طور چشمگیری در نمونه های بعد از عمل تغییر می کنند (41,42). علاوه بر این کوماتسو و همکاران در سال 2015 گزارش کردند، سطح پلاسمایی

miR-18a به عنوان یک بیومارکر غیرتهاجمی و پایدار در بیماران مبتلا به سرطان معده افزایش داشته است (43). مطالعات حاکی از آن است که چندین miRNA از جمله miR-378 و miR-199a بیومارکرهای بالقوه جهت تشخیص اولیه Gastric cancer هستند (44,45). لازم به ذکر است مطالعات بعدی اثبات کرد، تعدادی از miRNA های پلاسمایی (miR-1, miR-25, miR-92a, miR-451 و miR-486-5p) به عنوان یک بیومارکر بالقوه برای تشخیص اولیه Gastric cancer می باشند (46). در نهایت مشخص شد، miR-195 در سرم بیماران مبتلا به سرطان معده در مقایسه با گروه کنترل به میزان قابل توجهی کاهش می یابد. بنابراین نتایج حاکی از آن است که miR-195 می تواند به عنوان یک بیومارکر تشخیصی برای سرطان معده عمل کند (47).

میکرو RNA های گردشی در خون، پلاسما و سرم در تماس نزدیک با سلول های خونی هستند. با این حال، تحقیقات کمی در مورد ارتباط بین miRNA های گردشی و سرطان های خون (Hematologic cancer) به انجام رسیده است. اولین مطالعه در مورد میزان تغییر یافته miRNA های گردشی در سرطان های خون در بیماران مبتلا به لنفوم سلول B بزرگ منتشر (DLBCL) در سال 2008، حاکی از افزایش قابل توجه میزان بیان سطح سرمی miR-21, miR-155 و miR-210 در این بیماران نسبت به افراد سالم است (48). علاوه بر لنفوم سلول B بزرگ منتشر (DLBCL)، miRNA های گردشی در خون نیز به طور قابل توجهی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL)، که نوع دیگری از سرطان خون است، تغییر می کند. همچنین در مطالعه دیگری افزایش میزان بیان هفت miRNA (miR-17, miR-484, miR-19b, miR-92a, miR-223 و miR-320) در سرم نمونه های بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن گزارش شد (49). شایان ذکر است، miR-155 به عنوان یک miRNA گردشی به طور قابل توجهی در پلاسمای بیماران مبتلا به CLL نسبت به پلاسمای کنترل سالم

افزایش می‌یابد (50). miR-145-5p و miR-185-5p را APRIL را که در سرم بیماران CLL افزایش می‌یابد، هدف قرار می‌دهند و ممکن است نقشی در تشخیص B-CLL داشته باشند (51). علاوه بر این، miR-15b و miR-195 هر دو می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی جدید و غیرتهاجمی در تشخیص و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به B-CLL عمل کنند (52). سرطان خون میلوئید حاد (AML) شایع‌ترین سرطان خون در بزرگسالان است. مطالعات حاکی از آن است که میزان بیان سطوح پلاسمایی miR-339، miR-150، miR-342 و let-7d در بیماران مبتلا به سرطان خون میلوئید حاد در مقایسه با افراد گروه کنترل دچار کاهش بیان می‌گردد در حالی که میزان بیان سطوح پلاسمایی miR-523 و let-7b در این بیماران در مقایسه با افراد گروه کنترل افزایش می‌یابد (53). به علاوه با توجه به افزایش میزان بیان سطح سرمی miR-181b-5p در بیماران مبتلا به سرطان خون میلوئید حاد بهبود یافته، این مولکول احتمالا می‌تواند با افزایش بقا در این بیماران در ارتباط باشد (54). همچنین مطالعات نشان می‌دهد، miR-32 با تارگت کردن FBXW7 که یک پروتئین سرکوب‌کننده‌ی تومور است، باعث پیشرفت سرطان لوسمی لنفوبلاستیک حاد سلول‌های لنفوسیت T (T-ALL) می‌شود (55). همچنین miR-1297

احتمالا ژن *PTEN* را هدف‌گیری می‌کند و می‌تواند به عنوان یک بیومارکر جدید و غیرتهاجمی در تشخیص و درمان سرطان لوسمی لنفوبلاستیک حاد سلول‌های لنفوسیت T (T-ALL) باشد (56). نقش سایر miRNAهای گردشی در چندین سرطان دیگر در جدول شماره 1 ذکر شده است.

سلول‌های بنیادی سرطانی (CSC) مسئول شروع سرطان، انتشار و مقاومت در برابر شیمی درمانی هستند. miRNA ها به طور متفاوت در سلول‌های بنیادی سرطانی بیان می‌شوند (57). miRNA ها ممکن است در تبدیل سلول‌های بنیادی طبیعی به سلول‌های بنیادی سرطانی نقش داشته باشند. به عنوان مثال، بیان let-7 را می‌توان در سلول‌های بنیادی جنینی و پیش‌ساز مشاهده کرد، اما در سلول‌های بنیادی سینه وجود ندارد و بیان let-7 در این سلول‌ها باعث ایجاد تومور می‌شود (58). از سوی دیگر miR-124 یک miRNA اختصاصی مغز است که در گلیوبلاستوما کاهش می‌یابد که منجر به افزایش تعداد CSC و ظرفیت انکوژنیک می‌گردد (59). با توجه به نقش miRNA ها در هدف قرار دادن ژن‌ها و مسیرهای مولکولی، درک دقیق تر نقش miRNA ها در بیولوژی CSC ممکن است درمان سرطان را بهبود بخشد و احتمالا منجر به کاربرد بالینی miRNA ها در تشخیص، پیش‌آگهی و درمان سرطان

جدول شماره 1: نقش سایر miRNA های گردشی در سرطان

دفرنس	مکانیسم عملکرد	نوع سرطان	miRNA های گردشی
(60)	در سرطان آستروسیتوما میزان بیان این miRNA ها در گردش به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد. همچنین می‌توان با استفاده از این miRNA ها، آستروسیتوما بدخیم را پیش‌بینی نمود.	آستروسیتوما	miR-150, miR-133a, miR-23a, miR-15b, miR-548b-5p, miR-497, miR-197
(61)	در بیماران مبتلا به سرطان مری میزان بیان miR-21 در گردش افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که با افزایش سطح تومور میزان miR-21 نیز افزایش می‌یابد.	سلول سنگفرشی مری	miR-21
(62)	در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان تخمدان نسبت به گروه کنترل میزان بیان miR-205 افزایش و میزان بیان let-7f کاهش می‌یابد.	تخمدان	let-7f, miR-205
(63)	در این بیماران سطح سرمی miR-210 افزایش چشمگیری دارد.	کلیه	miR-210
(64)	میزان بیان miR-21 در گردش در بیماران استئوسارکوما به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود. در حالی که miR-199a-3p در بیماران استئوسارکوما و miR-143 در بیماران استئوسارکوما کاهش می‌یابد.	استئوسارکوما	miR-143, miR-199a-3p, miR-21
(65)	در سرم افراد مبتلا به سرطان تیروئید، پایلاری میزان بیان let-7e, miR-151-5p و miR-222 در گردش افزایش را نشان می‌دهد.	تیروئید، پایلار	miR-222 و miR-151-5p, let-7e
(66)	miR-218 یکی از میکرو RNA های سرکوب‌کننده تومور است که در سرم بیماران مبتلا به سرطان دهانه رحم به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد.	دهانه رحم	miR-218
(67)	کاهش سطح سرمی miR-16 و miR-199a می‌تواند بیماران مبتلا به سرطان هیپاتوسلولار را از بیماران مبتلا به بیماری‌های مزمن کبدی متمایز کند. همچنین در بیماران مبتلا به ویروس هپاتیت B (HBV) میزان بیان سرمی miR-122 و miR-223 به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.	کبد	miR-199a, miR-16, miR-223 و miR-122

شود (57). به عنوان مثال، بیان miR-141 در سلول‌های بنیادی سرطان پروستات تهاجم را مهار می‌کند و متاستاز تومور را با مهار بیان بسیاری از ژن‌هایی که در پروماتاستاتیک نقش دارند، سرکوب می‌کند (69). همچنین، miR-302a/d با هدف قرار دادن مسیر E2F7/AKT (فاکتور رونویسی) از ورود به چرخه سلولی سلول‌های بنیادی سرطان کبد جلوگیری می‌نماید (70).

نقش miRNA های گردشی در ردیابی متاستاز

شواهد جمع‌آوری شده حاکی از فعالیت miRNA های گردشی، همانند هورمون‌ها است که در تنظیم بیان ژن‌ها در سلول‌های گیرنده به صورت هدفمند عمل می‌کنند. همچنین لازم به ذکر است سلول‌های سرطانی بر رفتار سلول‌های مجاور تأثیر می‌گذارند و در نهایت می‌توانند منجر به ایجاد تومور در سلول‌های ثانویه شوند. بنابراین با توجه به ترشح برخی از miRNA ها از سلول‌های سرطانی می‌توان ذکر نمود، این عوامل مولکولی در متاستاز سرطان می‌توانند اثرگذار باشند (20). در ادامه به مثال‌هایی در رابطه با نقش و اهمیت miRNA ها در مبحث متاستاز اشاره شده است. آزادسازی miRNA های اگزوزومی از سلول‌های کارسینومای کبدی به عنوان یک ارتباط بین سلولی مهم، می‌تواند متاستاز را در سلول‌های کبدی افزایش دهد (71). همچنین، miR-150 ترشح شده از مونوسیت‌ها می‌تواند آنژیوژنز و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را افزایش دهد (73،72). علاوه بر این، miR-9 ترشح شده از سلول‌های توموری نیز می‌تواند مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز را تقویت کند و miR-223 مترشح از ماکروفاژهای مرتبط با تومور می‌تواند باعث تهاجم به سلول‌های سرطانی پستان شود (75،74). لازم به ذکر است اختلال در میزان بیان شش miRNA (miR-10b، miR-17، miR-34a، miR-93، miR-155 و miR-373) ارتباط مستقیمی با سرطان پستان دارد که باعث پیشرفت و

گسترش متاستاز می‌شود (76). همچنین افزایش سطح سرمی miR-214، miR-10b و miR-373 با متاستاز به غدد لنفاوی در بیماران مبتلا به سرطان پستان همراه است (77،78). در مطالعات اخیر نشان داده شده است که افزایش سطح سرمی miR-17-5p/20a و miR-21 در بیماران مبتلا به سرطان معده به طور کلی با متاستاز در این سرطان مرتبط هستند و این مشخص می‌کند که این دو miRNA ممکن است به عنوان یک بیومارکر تشخیصی یا بیومارکر پیش‌آگهی برای سرطان معده محسوب شوند (79،80). وانگ و ژانگ در مطالعه‌ای در سال 2012 اثبات کردند، برخی از miRNA های گردشی با متاستاز در سرطان معده مرتبط هستند. در این مطالعه مشخص شد، بیان miR-17، به طور قابل توجهی در سرم بیماران مبتلا به سرطان معده افزایش یافته است (79). مطالعات انجام شده در این زمینه بر این مساله دلالت می‌کند که سطح پلاسمایی بیان سه miRNA (miR-21، miR-146a و miR-148a) با پیشرفت سرطان معده افزایش می‌یابد، بر این اساس miRNA های ذکر شده می‌توانند به عنوان بیومارکر برای پیش‌بینی متاستاز در این سرطان به کار برده شوند (81). شایان ذکر است، miR-200c در تعیین فنوتیپ سلول‌های اپیتلیال سرطانی دخیل است و میزان تهاجم و مهاجرت را در این سلول‌ها تنظیم می‌کند. این بیومارکر به طور قابل توجهی در نمونه‌های خون بیماران مبتلا به سرطان معده افزایش می‌یابد، بدین ترتیب miR-200c می‌تواند جهت پیش‌بینی متاستاز سرطان معده به کار رود (82). از سویی دیگر، مطالعات حاکی از بکارگیری افزایش میزان بیان miR-122 و miR-192 در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان معده برای تشخیص زود هنگام متاستاز ثانویه می‌باشد (83). شایان ذکر است miRNA های گردشی در متاستازهای سایر سرطان‌های پروستات، کلورکتال، دهانه رحم و تخمدان نیز نقش دارند (جدول شماره 2).

جدول شماره 2: نقش سایر miRNA های گردشی در ردیابی متاستاز

miRNA های گردشی	نوع سرطان	مکانیسم عملکرد	درفنس
miR-141, miR-375	پروستات	مطالعات گسترده حاکی از ارتباط نزدیک میان miR-141 و miR-375 با متاستاز در سرطان پروستات است.	(35)
miRNA-218	دهانه رحم	کاهش میزان بیان miRNA-218 در سرم بیماران مبتلا به سرطان دهانه رحم با متاستاز به غدد لنفاوی همراه است.	(66)
miR-200c	کلورکتال	این مولکول در سرم بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال به عنوان بیومارکر غیرتهاجمی برای پیش آگهی و پیش بینی متاستاز مورد استفاده قرار می گیرد.	(84)
miR-148a	تخمدان	در این بیماران سطح سرمی miR-148a کاهش چشمگیری دارد و این کاهش بیان با متاستاز به غدد لنفاوی همراه است.	(85)

نقش miRNA های گردشی در درمان سرطان

شیمی درمانی و پرتو درمانی از روش های مهم در درمان توموراند که غالباً با عمل جراحی همراه است. با این حال، برخی از انواع سلول های تومور ممکن است پس از درمان طولانی مدت در بعضی از بیماران با یک درمان خاص عواقب نامطلوبی را به دنبال داشته باشد. محققان برای انتخاب استراتژی های درمانی برتر، بیومارکرهای دقیق برای درمان سرطان های مختلف را بررسی کردند. در این میان، miRNA ها و اهداف پایین دستی آنها ممکن است به یک استراتژی جدید برای جایگزینی درمان با شیمی درمانی یا رادیوتراپی تبدیل شود (86). وزیکول های خارج سلولی یا اگزوزوم های حاوی miRNA می توانند توسط سلول ها ترشح شوند و به بافت های مختلف منتقل شوند. این روش در مقایسه با سایر حامل های درمان هدفمند مانند ویروس ها، لیپیدها، نانوذرات پلیمری و میکروذرات به عنوان یک حامل طبیعی عمل می کنند و می توانند از حمله سیستم ایمنی بدن جلوگیری کنند (20). بنابراین، وزیکول های خارج سلولی و اگزوزومی می توانند در قالب اهداف درمانی به صورت یک استراتژی موثر در درمان سرطان استفاده شوند (87). از سویی دیگر miR-150 از طریق تنظیم ماکروفاژهای مرتبط با تومور در ترشح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی شرکت می کند و نقش مثبتی در رشد تومور دارد. همچنین، با انتقال آنتی سنس miR-150 به وزیکول های خارج سلولی، این وزیکول های اصلاح شده می توانند به تومور برسند و از رشد تومور جلوگیری کنند (72). از طرف دیگر در سایر پژوهش های انجام شده به اثبات رسیده است که می توان از سطوح تغییر یافته میزان بیان miRNA های گردشی جهت بررسی تأثیر

شیمی درمانی بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان نیز استفاده کرد. به عنوان مثال، افزایش میزان سطح بیان miR-125b در بیماران مبتلا به سرطان پستان می تواند نشان دهنده پاسخ درمانی کم تر به داروی 5-فلوروراسیل (5-FU)، اپی روبوسین و سیکلوفسفامید (FEC) باشد (88). علاوه بر این، مقادیر بالای میزان بیان miR-210 در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پستان باعث مقاومت در برابر داروی تراستوزوماب می گردد که در نهایت منجر به پیشرفت تومور می شود (89). همچنین، در مطالعه ای که توسط وانگ و همکاران در سال 2013 صورت گرفت مشخص شد، افزایش سطح سرمی میزان بیان miR-125b در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول بزرگ منجر به عدم پاسخگویی بیمار به شیمی درمانی توسط سیس پلاتین می گردد (90). در مطالعه ای دیگر نشان داده شده است که افزایش بیان miR-135b گردشی منجر به کاهش آپوپتوز و افزایش رشد سلولی به دلیل کاهش بیان گیرنده β فاکتور رشد 2 (TGF β R2) و پروتئین کیناز 1 مرتبط با مرگ (DAPK1) و همچنین فعال شدن مسیرهای APC/ β -catenin و SRC-PI3K می شود. در این مطالعه کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز در تومورهای کولورکتال در موش های تحت درمان با anti-miR-135b گزارش شده است. این مسئله حاکی از اثربخشی miR-135b در داخل بدن با سمیت کم است (91). از جمله سایر miRNA های گردشی که با پیشرفت سرطان کولورکتال در ارتباط است، miR-150-5p می باشد که هدف احتمالی آن ژن سرکوبگر تومور TP53 است. بنابراین، اتصال miR-150-5p به ژن سرکوبگر تومور TP53 نقش مهمی در تنظیم تکثیر، توقف سلولی و آپوپتوز در سرطان کولورکتال ایفا می کند که می تواند

یک هدف جذاب برای درمان باشد (92). از سوی دیگر بیان miR-518d-5p گردش در بیماران مبتلا به سرطان کبد افزایش می‌یابد. در واقع این miRNA باعث مقاومت داروی سورافنیب در درمان سرطان کبد می‌شود. این مقاومت از طریق مهار آپوپتوز ناشی از مسیر c-Jun/PUMA ایجاد می‌گردد (93). بررسی‌ها حاکی از افزایش بیان قابل توجه miR-223 گردش در بیماران مبتلا به سرطان دهان نسبت به افراد سالم می‌باشد. این miRNA به عنوان یک سرکوب‌کننده تومور با مهار تکثیر سلولی و القای آپوپتوز عمل نموده و ممکن است یک هدف درمانی جدید برای درمان سرطان دهان باشد (94).

بحث

میکرو RNA های گردش به عنوان بیومارکرهای مولکولی در سلول‌های توموری در طول مدت تومورزایی و پیشرفت سرطان تغییر می‌کنند. چنین تغییراتی قابل تشخیصی سبب تشخیص زودهنگام، پیش‌آگهی و درمان سرطان توسط این بیومارکرهای مولکولی می‌گردد (95). در این راستا، بررسی نقش پاتوفیزیولوژیک miRNA های گردش توسط پژوهشگران بسیار مورد توجه قرار گرفته است. زیرا miRNA های گردش نه تنها در ارتباط بین سلولی نقش دارند و هرگونه اختلال در تنظیم ترشح این miRNA ها در بافت‌ها با بروز چندین سرطان همراه است، بلکه با توجه به پایداری قابل توجه این بیومارکرهای مولکولی در مایعات بدن و در گردش خون و همچنین مقاومت آن‌ها در برابر فعالیت RNase چرخه‌های انجماد-ذوب، می‌توانند به عنوان بیومارکرهای غیرتهاجمی در تشخیص زودهنگام سرطان، پیش‌آگهی و تایید تصمیمات بالینی در جهت درمان به کار برده شوند (96-98). مطالعات حاکی از این است که تعداد زیادی از miRNA های گردش به عنوان بیومارکرهای تشخیصی یا پیش‌آگهی برای انواع مختلف بیماران سرطانی، به‌ویژه برای تومورهایی که در مراحل اولیه به سختی قابل تشخیص هستند، حائز اهمیت هستند (86).

همچنین، سنجش miRNA های گردش می‌تواند تاثیر عمده‌ای در مدیریت سرطان داشته باشد. از طرفی، سنجش دقیق این عوامل مولکولی در مایعات بدن، به دلیل غلظت پایین میزان بیان آن‌ها نسبت به بافت و اندازه کوچکیشان، با چالش‌هایی مواجه است. در این راستا روش Real time quantitative reverse transcription-PCR (روشی پرکاربرد و بسیار حساس) یکی از روش‌های مولکولی مورد استفاده برای تعیین بیان این بیومارکرهای مولکولی است که تنها به مقادیر کمی RNA نیاز دارد و به راحتی می‌تواند miRNA های گردش را از طریق بیوپسی مایع در پلاسما یا سرم تشخیص دهد. البته محدودیت عمده روش qRT-PCR، کاربرد آن برای سنجش تعداد کمی از miRNA ها (معمولاً کم‌تر از 700) می‌باشد. از دیگر روش‌های جایگزین برای تشخیص miRNA های گردش روش میکروآرای است. مزیت این روش توانایی تشخیص همزمان تعداد زیادی از miRNA های گردش است. از معایب این تکنیک می‌توان به عدم توانایی در شناسایی گونه‌های جدید miRNA اشاره کرد. توالی‌یابی نسل بعدی فناوری دیگر برای تشخیص miRNA های گردش براساس توالی‌یابی است. از جمله مزیت این تکنیک تشخیص miRNA های شناخته شده و ناشناخته است. با این حال این روش به مقدار زیادی ماده اولیه نیاز دارد و داده‌های زیادی تولید می‌کند و باید با استفاده از ابزار پیچیده بیوانفورماتیک تجزیه و تحلیل شوند (99,100). شایان ذکر است استفاده از miRNA های گردش به عنوان نشانگرهای زیستی در آنکولوژی هم بسیار بحث‌انگیز است. با وجود پتانسیل بالای آن‌ها در کاربردهای بالینی، در حال حاضر اندازه‌گیری miRNA های گردش هنوز در حوزه بالینی انجام نشده است. زیرا در مسیر این تحول بالینی چالش‌های بسیاری همچون درک نامشخص عملکرد و ویژگی‌های زیست‌شناختی miRNA های گردش، به کارگیری آن‌ها در درمان هدفمند، ژن‌های کدکننده و اثراتشان در مسیرهای سیگنالینگ مطرح است. بنابراین پیشنهاد می‌گردد، قبل از استفاده بالینی از miRNA های

علاوه بر موارد فوق‌الذکر، هنوز چالش‌هایی در استفاده از miRNA‌های گردشی در درمان هدفمند وجود دارد. بسته‌بندی miRNA‌های مصنوعی و اصلاح شده در اگزوزوم‌ها می‌تواند پایداری miRNA‌ها را در داخل بدن افزایش دهد. با این حال، ویژگی‌ها و نفوذپذیری بافت‌ها یک مشکل بزرگ است. لیگاند، آنتی‌بادی و نانوذراتی که miRNA‌ها را حمل می‌کنند، امروزه با بهبود ویژگی و کاهش سمیت ایمنی طراحی شده‌اند. با این وجود، تعداد زیادی از مطالعات پیش بالینی در حیوانات باید برای تأیید اثربخشی آن‌ها در نظر گرفته شود (84).

سپاسگزاری

تمامی نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک اعلام می‌دارند.

گردشی به عنوان بیومارکرها در آنکولوژی، باید بر این چالش‌ها فائق آمد و در جهت رفع این مشکلات مطالعات آزمایشگاهی باید در مقیاس بزرگ انجام شود. همچنین، جهت ارتقا دانش در مورد به‌کارگیری این بیومارکرهای جدید، انتخاب مناسب مایعات بدن، محدود کردن آلودگی‌های ناشی از عناصر سلولی، استانداردسازی روش‌های تجزیه و تحلیل و انتخاب ژن مرجع مناسب، لازم است. علاوه بر این، درک بیش‌تر از فرم غالب miRNA‌های گردشی موجود در گردش خون و عملکرد بیولوژیکی شان، کاوش عمیق‌تر در مکانیسم اصلی انتشار، انتقال، جذب، وضعیت miRNA‌های گردشی در ارتباطات سلولی جهت دستیابی به موفقیت در استفاده از این عوامل مولکولی در درمان سرطان و ارائه آن‌ها به‌عنوان بیومارکرهایی با اختصاصیت و حساسیت بالا در حوزه‌ی بالینی امری بسیار ضروری است (102، 101، 95، 91).

References

1. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA Oncol* 2017; 3(4): 524-548.
2. Alshehri S, Imam SS, Rizwanullah M, Akhter S, Mahdi W, Kazi M, et al. Progress of Cancer Nanotechnology as Diagnostics, Therapeutics, and Theranostics Nanomedicine: Preclinical Promise and Translational Challenges. *Pharmaceutics* 2021; 13(1): 24.
3. Naderi M, Pazouki A, Arefian E, Hashemi SM, Jamshidi-Adegani F, Gholamalamdari O, et al. Two triacylglycerol pathway genes, CTDNEP1 and LPIN1, are down-regulated by hsa-miR-122-5p in hepatocytes. *Arch Iran Med* 2017; 20(3): 165-171.
4. Nikfarjam AH, Pornour M, Sohrabi M. The expression of Hsa-miR-490 in peripheral blood circulation of patients with breast cancer. *RJMS* 2019; 26(10): 87-94.
5. Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview. *Methods Mol Biol* 2017; 1509: 1-10.
6. Mondanizadeh M, Arefian E, Mosayebi G, Saidijam M, Khansarinejad B, Hashemi SM. MicroRNA-124 regulates neuronal differentiation of mesenchymal stem cells by targeting Sp1 mRNA. *J Cell Biochem* 2015; 116(6): 943-953.
7. Turchinovich A, Cho W. The origin, function and diagnostic potential of extracellular microRNA in human body fluids. *Front Genet* 2014; 5: 30.
8. Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K, Shekarabi M.

- Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. *RJMS* 2017; 24(160): 22-36.
9. Chakraborty C, Das S. Profiling cell-free and circulating miRNA: a clinical diagnostic tool for different cancers. *Tumor Biol* 2016; 37(5): 5705-5714.
 10. Sohail MH. Extracellular/circulating microRNAs: release mechanisms, functions and challenges. *Achiev Life Sci* 2016; 10(2): 175-186.
 11. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105(30): 10513-10518.
 12. Matsuzaki J, Ochiya T. Circulating microRNAs and extracellular vesicles as potential cancer biomarkers: a systematic review. *Int J Clin Oncol* 2017; 22(3): 413-420.
 13. Parvae P, Sarmadian H, Khansarinejad B, Amini M, Mondanizadeh M. Plasma level of microRNAs, miR-107, miR-194 and miR-210 as potential biomarkers for diagnosis intestinal-type gastric cancer in human. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019; 20(5): 1421-1426.
 14. Matsuzaki J, Ochiya T. Circulating microRNAs: Next-generation Cancer Detection. *Keio J Med* 2020; 69(4): 88-96.
 15. Rahbarghazi R, Rezaie J. Extracellular Vesicles And Their Therapeutic Applications: A Review. *Stud Med Sci* 2019; 30(3): 187-206.
 16. 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* 2011; 108(12): 5003-5008.
 17. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 2013; 200(4): 373-383.
 18. Fujita Y, Araya J, Ito S, Kobayashi K, Kosaka N, Yoshioka Y, et al. Suppression of autophagy by extracellular vesicles promotes myofibroblast differentiation in COPD pathogenesis. *J Extracell Vesicles* 2015; 4(1): 28388.
 19. Jarry J, Schadendorf D, Greenwood C, Spatz A, Van Kempen L. The validity of circulating microRNAs in oncology: five years of challenges and contradictions. *Mol Oncol* 2014; 8(4): 819-829.
 20. Cheng G. Circulating miRNAs: roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 81: 75-93.
 21. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18(10): 997-1006.
 22. Investigators IELCAP. Survival of patients with stage I lung cancer detected on CT screening. *N Engl J Med* 2006; 355(17): 1763-1771.
 23. Ma R, Jiang T, Kang X. Circulating microRNAs in cancer: origin, function and application. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31(1): 1-9.
 24. Roth C, Rack B, Müller V, Janni W, Pantel K, Schwarzenbach H. Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010; 12(6): 1-8.
 25. Mar-Aguilar F, Mendoza-Ramírez JA, Malagón-Santiago I, Espino-Silva PK, Santuario-Facio SK, Ruiz-Flores P, et al. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential breast cancer biomarkers. *Dis Markers* 2013; 34(3): 163-169.
 26. Ng EK, Li R, Shin VY, Jin HC, Leung CP,

- Ma ES, et al. Circulating microRNAs as specific biomarkers for breast cancer detection. *PloS One* 2013; 8(1): e53141.
27. Heneghan HM, Miller N, Kelly R, Newell J, Kerin MJ. Systemic miRNA-195 differentiates breast cancer from other malignancies and is a potential biomarker for detecting noninvasive and early stage disease. *Oncologist* 2010; 15(7): 673-682.
 28. Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpenning M, Giuliano AE, Hoon DS. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer. *Clin Chem* 2011; 57(1): 84-91.
 29. Chan M, Liaw CS, Ji SM, Tan HH, Wong CY, Thike AA, et al. Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection. *Clin Cancer Res* 2013; 19(16): 4477-4487.
 30. Cuk K, Zucknick M, Heil J, Madhavan D, Schott S, Turchinovich A, et al. Circulating microRNAs in plasma as early detection markers for breast cancer. *Int J Cancer* 2013; 132(7): 1602-1612.
 31. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Fälth M, Haese A, Steuber T, et al. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int J Cancer* 2011; 128(3): 608-616.
 32. Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Morimura R, Tsujiura M, Konishi H, et al. Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 108(2): 361-369.
 33. Nguyen HCN, Xie W, Yang M, Hsieh CL, Drouin S, Lee GSM, et al. Expression differences of circulating microRNAs in metastatic castration resistant prostate cancer and low-risk, localized prostate cancer. *Prostate* 2013; 73(4): 346-354.
 34. Selth L, Townley S, Bert A, Stricker P, Sutherland P, Horvath L, et al. Circulating microRNAs predict biochemical recurrence in prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2013; 109(3): 641-650.
 35. Bryant R, Pawlowski T, Catto J, Marsden G, Vessella R, Rhees B, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *Br J Cancer* 2012; 106(4): 768-774.
 36. Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut* 2009; 58(10): 1375-1381.
 37. Wang Q, Huang Z, Ni S, Xiao X, Xu Q, Wang L, et al. Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer. *PloS One* 2012; 7(9): e44398.
 38. Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, Furuta K, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PloS One* 2014; 9(4): e92921.
 39. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer* 2010; 127(1): 118-126.
 40. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74-108.
 41. Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102(7): 1174-1179.
 42. Zhou H, Guo J-M, Lou Y-R, Zhang X-J, Zhong F-D, Jiang Z, et al. Detection of

- circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88(7): 709-117.
43. Tsujiura M, Komatsu S, Ichikawa D, Shiozaki A, Konishi H, Takeshita H, et al. Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 2015; 18(2): 271-279.
 44. Liu H, Zhu L, Liu B, Yang L, Meng X, Zhang W, et al. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer. *Cancer Lett* 2012; 316(2): 196-203.
 45. Li C, Li JF, Cai Q, Qiu QQ, Yan M, Liu BY, et al. MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 108(2): 89-92.
 46. Zhu C, Ren C, Han J, Ding Y, Du J, Dai N, et al. A five-microRNA panel in plasma was identified as potential biomarker for early detection of gastric cancer. *Br J Cancer* 2014; 110(9): 2291-2299.
 47. Gorur A, Fidanci SB, Unal ND, Ayaz L, Akbayir S, Yaroglu HY, et al. Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer. *Mol Biol Rep* 2013; 40(3): 2091-2096.
 48. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141(5): 672-675.
 49. Moussay E, Wang K, Cho J-H, van Moer K, Pierson S, Paggetti J, et al. MicroRNA as biomarkers and regulators in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(16): 6573-6578.
 50. Ferrajoli A, Shanafelt TD, Ivan C, Shimizu M, Rabe KG, Nouraei N, et al. Prognostic value of miR-155 in individuals with monoclonal B-cell lymphocytosis and patients with B chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013; 122(11): 1891-1899.
 51. Bagheri M, Khansarinejad B, Mosayebi G, Moradabadi A, Mondanizadeh M. Diagnostic Value of Plasma miR-145 and miR-185 as Targeting of the APRIL Oncogene in the B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021; 22(1): 111-117.
 52. Bagheri M, Khansarinejad B, Mosayebi G, Moradabadi A, Mondanizadeh M. Alterations in The Plasma Expression of mir-15b, mir-195 and the Tumor-Suppressor Gene DLEU7 in Patients with B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Rep Biochem Mol Biol* 2021; 10(1): 20-29.
 53. Fayyad-Kazan H, Bitar N, Najjar M, Lewalle P, Fayyad-Kazan M, Badran R, et al. Circulating miR-150 and miR-342 in plasma are novel potential biomarkers for acute myeloid leukemia. *J Transl Med* 2013; 11: 31.
 54. Zhi F, Cao X, Xie X, Wang B, Dong W, Gu W, et al. Identification of circulating microRNAs as potential biomarkers for detecting acute myeloid leukemia. *PloS One* 2013; 8(2): e56718.
 55. Mansouri S, Khansarinejad B, Mosayebi G, Eghbali A, Mondanizadeh M. Alteration in Expression of miR-32 and FBXW7 Tumor Suppressor in Plasma Samples of Patients with T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 1253-1259.
 56. Bagheri M, Mosayebi G, Mondanizadeh M. Changes in Expression of miR-1297 and PTEN Tumor Suppressor Gene in T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2021; 31(192): 24-34 (Persian).

57. Garofalo M, Croce CM. Role of microRNAs in maintaining cancer stem cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 81: 53-61.
58. Li R, Qian N, Tao K, You N, Wang X, Dou K. MicroRNAs involved in neoplastic transformation of liver cancer stem cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29(1): 169.
59. Prokopi M, Kousparou CA, Epenetos AA. The secret role of microRNAs in cancer stem cell development and potential therapy: a Notch-pathway approach. *Front Oncol* 2015; 4: 389.
60. Yang C, Wang C, Chen X, Chen S, Zhang Y, Zhi F, et al. Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. *Int J Cancer* 2013; 132(1): 116-127.
61. Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsujiura M, Morimura R, Nagata H, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105(1): 104-111.
62. Zheng H, Zhang L, Zhao Y, Yang D, Song F, Wen Y, et al. Plasma miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. *PloS One* 2013; 8(11): e77853.
63. Zhao A, Li G, Péoc'h M, Genin C, Gigante M. Serum miR-210 as a novel biomarker for molecular diagnosis of clear cell renal cell carcinoma. *Exp Mol Pathol* 2013; 94(1): 115-120.
64. Ouyang L, Liu P, Yang S, Ye S, Xu W, Liu X. A three-plasma miRNA signature serves as novel biomarkers for osteosarcoma. *Med Oncol* 2013; 30(1): 340.
65. Yu S, Liu Y, Wang J, Guo Z, Zhang Q, Yu F, et al. Circulating microRNA profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(6): 2084-2092.
66. Yu J, Wang Y, Dong R, Huang X, Ding S, Qiu H. Circulating microRNA-218 was reduced in cervical cancer and correlated with tumor invasion. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138(4): 671-674.
67. Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45(4): 355-360.
68. Köberle V, Kronenberger B, Pleli T, Trojan J, Imelmann E, Peveling-Oberhag J, et al. Serum microRNA-1 and microRNA-122 are prognostic markers in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2013; 49(16): 3442-3449.
69. Liu C, Liu R, Zhang D, Deng Q, Liu B, Chao H-P, et al. MicroRNA-141 suppresses prostate cancer stem cells and metastasis by targeting a cohort of pro-metastasis genes. *Nat Commun* 2017; 8: 14270.
70. Ma Y-S, Lv Z-W, Yu F, Chang Z-Y, Cong X-L, Zhong X-M, et al. MicroRNA-302a/d inhibits the self-renewal capability and cell cycle entry of liver cancer stem cells by targeting the E2F7/AKT axis. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37: 252.
71. Kogure T, Lin WL, Yan IK, Braconi C, Patel T. Intercellular nanovesicle-mediated microRNA transfer: a mechanism of environmental modulation of hepatocellular cancer cell growth. *Hepatology* 2011; 54(4): 1237-1248.
72. Li J, Zhang Y, Liu Y, Dai X, Li W, Cai X, et al. Microvesicle-mediated transfer of microRNA-150 from monocytes to endothelial cells promotes angiogenesis. *J Biol Chem* 2013; 288(32): 23586-23596.
73. Zhang Y, Liu D, Chen X, Li J, Li L, Bian Z, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. *Mol Cell*

- 2010; 39(1): 133-144.
74. Zhuang G, Wu X, Jiang Z, Kasman I, Yao J, Guan Y, et al. Tumour-secreted miR-9 promotes endothelial cell migration and angiogenesis by activating the JAK-STAT pathway. *EMBO* 2012; 31(17): 3513-3523.
75. Yang M, Chen J, Su F, Yu B, Su F, Lin L, et al. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. *Mol Cancer* 2011; 10(1): 1-13.
76. Eichelsner C, Flesch-Janys D, Chang-Claude J, Pantel K, Schwarzenbach H. Deregulated serum concentrations of circulating cell-free microRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in human breast cancer development and progression. *Clin Chem* 2013; 59(10): 1489-1496.
77. Schwarzenbach H, Milde-Langosch K, Steinbach B, Müller V, Pantel K. Diagnostic potential of PTEN-targeting miR-214 in the blood of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134(3): 933-941.
78. Chen W, Cai F, Zhang B, Barekati Z, Zhong XY. The level of circulating miRNA-10b and miRNA-373 in detecting lymph node metastasis of breast cancer: potential biomarkers. *Tumor Biol* 2013; 34(1): 455-462.
79. Wang M, Gu H, Wang S, Qian H, Zhu W, Zhang L, et al. Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012; 5(6): 1514-1520.
80. Zheng Y, Cui L, Sun W, Zhou H, Yuan X, Huo M, et al. MicroRNA-21 is a new marker of circulating tumor cells in gastric cancer patients. *Cancer Biomark* 2012; 10(2): 71-77.
81. Kim SY, Jeon TY, Choi CI, Kim DH, Kim DH, Kim GH, et al. Validation of circulating miRNA biomarkers for predicting lymph node metastasis in gastric cancer. *J Mol Diagn* 2013; 15(5): 661-669.
82. Valladares-Ayerbes M, Reboredo M, Medina-Villaamil V, Iglesias-Díaz P, Lorenzo-Patiño MJ, Haz M, et al. Circulating miR-200c as a diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer. *J Transl Med* 2012; 10(1): 1-14.
83. Chen Q, Ge X, Zhang Y, Xia H, Yuan D, Tang Q, et al. Plasma miR-122 and miR-192 as potential novel biomarkers for the early detection of distant metastasis of gastric cancer. *Oncol Rep* 2014; 31(4): 1863-1870.
84. Toiyama Y, Hur K, Tanaka K, Inoue Y, Kusunoki M, Boland CR, et al. Serum miR-200c is a novel prognostic and metastasis-predictive biomarker in patients with colorectal cancer. *Ann Surg* 2014; 259(4): 735-743.
85. Gong L, Wang C, Gao Y, Wang J. Decreased expression of microRNA-148a predicts poor prognosis in ovarian cancer and associates with tumor growth and metastasis. *Biomed Pharmacother* 2016; 83: 58-63.
86. Wang H, Peng R, Wang J, Qin Z, Xue L. Circulating microRNAs as potential cancer biomarkers: the advantage and disadvantage. *Clin Epigenetics* 2018; 10(1): 1-10.
87. Kosaka N, Takeshita F, Yoshioka Y, Hagiwara K, Katsuda T, Ono M, et al. Exosomal tumor-suppressive microRNAs as novel cancer therapy: "exocure" is another choice for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65(3): 376-382.
88. Wang H, Tan G, Dong L, Cheng L, Li K, Wang Z, et al. Circulating MiR-125b as a marker predicting chemoresistance in breast cancer. *PloS One* 2012; 7(4): e34210.
89. Jung EJ, Santarpia L, Kim J, Esteva FJ, Moretti E, Buzdar AU, et al. Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients. *Cancer* 2012; 118(10): 2603-2614.

90. Cui E-h, Li H-j, Hua F, Wang B, Mao W, Feng X-r, et al. Serum microRNA 125b as a diagnostic or prognostic biomarker for advanced NSCLC patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Acta Pharmacol Sin* 2013; 34(2): 309-313.
91. Wang W-T, Chen Y-Q. Circulating miRNAs in cancer: from detection to therapy. *J Hematol Oncol* 2014; 7(1): 1-9.
92. Liu F, Di Wang X. miR-150-5p represses TP53 tumor suppressor gene to promote proliferation of colon adenocarcinoma. *Sci Rep* 2019; 9(1): 6740.
93. Fernández-Tussy P, Rodríguez-Agudo R, Fernández-Ramos D, Barbier-Torres L, Zubiete-Franco I, de Davalillo SL, et al. Anti-miR-518d-5p overcomes liver tumor cell death resistance through mitochondrial activity. *Cell Death Dis* 2021; 12(6): 1-16.
94. Tachibana H, Sho R, Takeda Y, Zhang X, Yoshida Y, Narimatsu H, et al. Circulating miR-223 in oral cancer: its potential as a novel diagnostic biomarker and therapeutic target. *PloS One* 2016; 11(7): e0159693.
95. Cui M, Wang H, Yao X, Zhang D, Xie Y, Cui R, et al. Circulating microRNAs in cancer: potential and challenge. *Front Genet* 2019; 10: 626.
96. Penyige A, Márton É, Soltész B, Szilágyi-Bónizs M, Póka R, Lukács J, et al. Circulating miRNA profiling in plasma samples of ovarian cancer patients. *Int J Mol Sci* 2019; 20(18): 4533.
97. Saavedra N, Rojas G, Herrera J, Rebolledo C, Ruedlinger J, Bustos L, et al. Circulating miRNA-23b and miRNA-143 Are Potential Biomarkers for In-Stent Restenosis. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 2509039.
98. Dufresne S, Rébillard A, Muti P, Friedenreich CM, Brenner DR. A review of physical activity and circulating miRNA expression: implications in cancer risk and progression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2018; 27(1): 11-24.
99. Valihrach L, Androvic P, Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy. *Mol Aspects Med* 2020; 72: 100825.
100. Hamam R, Hamam D, Alsaleh KA, Kassem M, Zaher W, Alfayez M, et al. Circulating microRNAs in breast cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers. *Cell Death Dis* 2017; 8(9): e3045.
101. Armand-Labit V, Pradines A. Circulating cell-free microRNAs as clinical cancer biomarkers. *Biomol Concepts* 2017; 8(2): 61-81.
102. Zelli V, Compagnoni C, Capelli R, Cannita K, Sidoni T, Ficorella C, et al. Circulating MicroRNAs as Prognostic and Therapeutic Biomarkers in Breast Cancer Molecular Subtypes. *J Pers Med* 2020; 10(3): 98.