



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

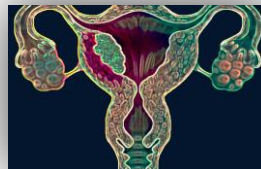


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

MicroRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου
Ρόλος - σημασία και πιθανές κλινικές εφαρμογές

POST GRADUATE THESIS

MicroRNAs in endometrial cancer
Role-Significance and potential clinical applications



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ /NAME OF STUDENT

Φωτεινή Γιαννέλη
Foteini Gianneli

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου
Fragiski Anthouli-Anagnostopoulou

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2022



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

MicroRNAs in endometrial cancer

Role-Significance and potential clinical applications

ΦΩΤΕΙΝΗ ΓΙΑΝΝΕΛΗ

Dml20004

fei_gian@hotmail.com

FIRST SUPERVISOR

FRAGISKI ANTHOULI-ANAGNOSTOPOULOU

SECOND SUPERVISOR

ANASTASIOS PAPANASTASIOU

THIRD SUPERVISOR

ANASTASIOS KRIEMBARDIS

AIGALEO 2022

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 8/7/2022

Υπογραφή

Ονόματα εξεταστών

1ος Εξεταστής Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου

2ος Εξεταστής Αναστάσιος Παπαναστασίου

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Φωτεινή Γιαννέλη του Ηλία Γιαννέλη, με αριθμό μητρώου Dm120004 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου» .

Η Δηλούσα

Φωτεινή Γιαννέλη

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής υπό την επίβλεψη της Δρ Φραγκίσκης Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2021-2022.

Θέλω να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνεισέφεραν άμεσα ή έμμεσα στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας. Το ευχαριστήριο αυτό σημείωμα εκφράζει ένα ελάχιστο μέρος της ευγνωμοσύνης που αισθάνομαι για όλους τους ανθρώπους που συνέβαλαν σ' αυτό το πόνημα.

Αρχικά, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στη Δρ. Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου, που ως επικεφαλής και επιστημονική υπεύθυνη με τίμησε με την εμπιστοσύνη της και την επιστημονική της καθοδήγηση και στήριξε την προσπάθειά μου κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Μου δίδαξε πώς να πετυχαίνω τους στόχους μου και πώς να μεθοδεύω τη σκέψη μου. Μέσα από την πολύ ενδιαφέρουσα αλληλεπίδρασή μας αποκόμισα γνώσεις που εξέλιξαν και ωρίμασαν τον τρόπο ανάλυσης και συγγραφής της εργασίας μου.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον Δρ Πέτρο Καρκαλούσο για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω τη διπλωματική μου εργασία. Η στήριξη, η καθοδήγηση και η ενθάρρυνσή του για το συντονισμό και ολοκλήρωση της διπλωματικής υπήρξε καθοριστική.

Ευχαριστώ πολύ και τους ετέρους συνεπιβλέποντές μου Δρ Αναστάσιο Παπαναστασίου και Δρ Αναστάσιο Κριεμπάρδη για το χρόνο τους και τη συμβολή τους στην παρούσα εργασία.

Ένα ξεχωριστό ευχαριστώ αξίζει στους δικούς μου ανθρώπους. Η συνεχής στήριξη της οικογένειας, των φίλων μου και του συντρόφου μου υπήρξε καταλυτική καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου τόσο στις δύσκολες μέρες όσο και στις χαρές και επιτυχίες που χαρακτήρισαν αυτό το διάστημα.

Αφιερώσεις

Η διπλωματική αυτή εργασία είναι αφιερωμένη στους γονείς μου

Και σε όσους πίστεψαν σε μένα.

*Σα βγεις στον πηγαιμό για την Ιθάκη,
να εύχεσαι να 'ναι μακρύς ο δρόμος,
γεμάτος περιπέτειες, γεμάτος γνώσεις.
Τους Λαιστρυγόνες και τους Κύκλωπας,
τον θυμωμένο Ποσειδώνα μη φοβάσαι, τέτοια στον δρόμο σου
ποτέ σου δεν θα βρεις,
αν μέν' η σκέψις σου υψηλή, αν εκλεκτή
συγκίνησις το πνεύμα και το σώμα σου αγγίζει.
Τους Λαιστρυγόνες και τους Κύκλωπας,
τον άγριο Ποσειδώνα δεν θα συναντήσεις, αν δεν
τους κουθανείς μες στην ψυχή σου,
αν η ψυχή σου δεν τους στήνει εμπρός σου.*

*Η Ιθάκη σ' έδωσε τ' ωραίο ταξίδι.
Χωρίς αυτήν δεν θα 'βγαίνες στον δρόμο.
Άλλα δεν έχει να σε δώσει πια.
Κι αν πτωχική την βρεις, η Ιθάκη δεν σε γέλασε.
Έτσι σοφός που έγινες, με τόση πείρα, ήδη θα το κατάλαβες οι
Ιθάκες τι σημαίνουν.*

Κ.Π. Καβάφης, «Ιθάκη»

Περίληψη

Εισαγωγή: Τα microRNAs (miRNAs) αποτελούν τα κύρια συστατικά της γονιδιακής σίγησης του mRNA που στοχεύει και οδηγεί στην αποικοδόμηση του mRNA ή στη μεταφραστική καταστολή. Ο “λεπτός” συντονισμός της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης μέσω της λειτουργίας των miRNAs, ενορχηστρώνει βασικές κυτταρικές λειτουργίες και μοριακά γεγονότα όπως η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη. Η απορρύθμιση τέτοιων μηχανισμών και διαδικασιών οδηγεί σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής (EMT) και του καρκίνου. Η διαταραγμένη έκφραση των miRNAs ανιχνεύεται επίσης στον καρκίνο του ενδομητρίου, το δεύτερο σε συχνότητα μετά τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, καρκίνο των γυναικείων αναπαραγωγικών οργάνων, καθιστώντας τα miRNAs ελκυστικά μόρια για εκτεταμένη έρευνα.

Σκοπός της μελέτης: Μια βαθιά κατανόηση των miRNAs και των λειτουργικών τους μηχανισμών στον καρκίνο του ενδομητρίου και μια πιθανή χρήση αυτών των μορίων σε θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Υλικά και Μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκαν πολλές διαδικτυακές πλατφόρμες για την ανάλυση δεδομένων στατιστικής καθώς και έγκριτων επιστημονικών περιοδικών.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης αποκάλυψαν ότι τα miRNAs λειτουργούν ως πιθανά ογκογόνα ή ογκοκατασταλτικά μόρια ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασης και τον συνεργιστικό τους ρόλο με άλλα. Μπορούν να αποτελέσουν βιοδείκτες για διάφορες φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της ογκογένεσης και της ανάπτυξης του καρκίνου ενδομητρίου, ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαφορική διάγνωση και πρόγνωση του ασθενούς. Συμμετέχουν σε μονοπάτια που σχετίζονται με την EMT, κυτταροσκελετικές ανακατατάξεις, επιγενετικές τροποποιήσεις και στο δυναμικό ανάπτυξης τόσο μεμονωμένα όσο και με συνεργιστικό τρόπο.

Συμπέρασμα: Σε αυτή τη μεταπτυχιακή εργασία, αναλύθηκαν λεπτομερώς τα πλέον πρόσφατα ευρήματα σχετικά με τα miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου, μια ευρέως απαντούμενη γυναικολογική κακοήθεια, και συζητήθηκε η πολυδιάστατη φύση των miRNAs ως βιοδεικτών και στόχων για μοριακή θεραπεία.

Τα miRNAs μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως θεραπευτικοί στόχοι, καθώς οι miRNA-μιμητικές αλληλουχίες (TargomiRs) ή οι αναστολείς που βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό επίπεδο, θα μπορούσαν να βοηθήσουν σε ασφαλέστερες και πρωτοποριακές θεραπευτικές προσεγγίσεις για τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Λέξεις κλειδιά: ενδομήτριο, miRNAs, καρκίνος του ενδομητρίου, TargomiRs θεραπευτικές αλληλουχίες, επιγενετικές τροποποιήσεις

Abstract

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) constitute main components of gene silencing by targeting mRNA and leading to the mRNA degradation or translational repression. Fine-tuning regulation of gene expression through miRNA function orchestrates pivotal cellular functions and molecular events such as differentiation and development. Deregulation of such mechanisms and procedures drives to a wide spectrum of human disease including EMT and cancer. Imbalanced miRNA expression is also detected in endometrial cancer, the second most frequent cancer after cervical cancer of the cancers of the female reproductive organs, making miRNAs appealing molecules for extensive research.

Aim of the study: A deep understanding of the miRNAs and their functional mechanisms in endometrial cancer and a possible usage of these molecules in therapeutic approaches.

Materials and methods: A variety of online databases has been used for the retrieval of peer reviewed research papers and other statistical data.

Results: The results of this study revealed that miRNAs function as potential oncogenic or tumor suppressive molecules depending on the expression levels and their synergistic role with others. They can be biomarkers for endometrial tumorigenesis and development and they can be used for differential diagnosis and patient prognosis. They participate in pathways associated with EMT, cytoskeletal rearrangements, epigenetic modifications and growth potential both separately and in synergistic way.

Conclusion: In this Master thesis, it was analyzed the latest findings on miRNA-field endometrial cancer, a common gynecological malignancy, and it was discussed the multidimensionality of miRNAs as biomarkers and targets for molecular therapy. miRNAs may also serve as therapeutic targets, since miRNA-mimic sequences (TargomiRs) or inhibitors which are still in experimental level, and could aid to safer and breakthrough therapeutic approaches for endometrial cancer.

Keywords: endometrium, miRNAs, endometrial cancer, TargomiRs therapeutic sequences, epigenetic modifications

Περιεχόμενα

Πρόλογος	1
A ΜΕΡΟΣ: 1. Εισαγωγή	4
1. 1. Ιστορική Αναδρομή-Ανακάλυψη μικρών RNAs (miRNAs)	4
1.2 miRNAs.....	6
1.3. Βιογένεση των miRNAs	9
1.4 Μεταγραφή των miRNAs	10
1. 5 Ωρίμανση των miRNAs	11
1. 6 Συγκρότηση και συναρμολόγηση του συμπλόκου miRISC.....	15
2. Πρωτεΐνες Αργοναύτες (AGOs).....	20
2. 1 Καρκίνος	23
3. 1 EMT στον καρκίνο	24
3. 2 miRNAs ως βάση για τη θεραπεία του καρκίνου	26
3. 3 miRNAs ως διαγνωστικοί δείκτες και ως θεραπευτικά μόρια στον καρκίνο	31
Πρόλογος για τα miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου	32
4. 1 miRNAs στο ενδομήτριο	32
4. 2 Έκφραση και λειτουργία των miRNAs στο ενδομήτριο	34
4. 3 Ρύθμιση των miRNAs του ενδομητρίου από Οιστρογόνα και Προγεστερόνη	35
4. 4 Δράση των miRNAs στους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης.....	37
5. Καρκίνος του ενδομητρίου	38
5. 1 Σταδιοποίηση.....	46
5. 2 Γενετικό προφίλ ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου	47
5. 3 Ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του ενδομητρίου	50
5. 4 Μοριακή ταξινόμηση	51
5. 5 Θεραπευτικές προσεγγίσεις καρκίνου ενδομητρίου	53
6. miRNAs ως θεραπευτική αγωγή στον καρκίνο	55
B' ΜΕΡΟΣ: Σκοπός της Εργασίας	57
Υλικά και Μέθοδοι.....	57
Αποτελέσματα	58
Συμπεράσματα	75
Βιβλιογραφία ιστοσελίδων	83
Βιβλιογραφία.....	83

Πηγές Εικόνων108

Συντομογραφίες

Σύντμηση	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AGOs	Argonaute proteins	Πρωτεΐνες Αργοναύτες
AMOs	Anti-microRNA Oligonucleotides	Ανταγωνιστικές ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες miRs
antimiRs ASO	antisense oligonucleotides	συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια
CircRNA	Circular RNA	κυκλοφορούν RNA
DGCR8	DGCR8 Microprocessor Complex Subunit	DGCR8 υπομονάδα του συμπλόκου μικροεπεξεργασίας
DNMT1	DNA methyltransferase 1	DNA μεθυλο-τρανσφεράση 1
DsRBD	Double stranded RNA-binding domain	RNA δίκλωνος δεσμευμένος κλάδος
DsRNA	Double stranded RNA	RNA δίκλωνο
EK		Καρκίνος του ενδομητρίου
EMT	Epithelial-to-mesenchymal transition	Επιθηλιακή σε μεσεγχυματική μετατροπή
EMX1	Homeobox protein EMX1	Homeobox πρωτεΐνη EMX1
ENCODE	Encyclopedia of DNA Elements	Εγκυκλοπαίδεια DNA στοιχείων
Era	Estrogen receptor α	Υποδοχέας οιστρογόνου α
exp5	Exportin 5	Εξπορτίνη 5
hMLH1	human mutL homolog 1	ανθρώπινο ασύμβατο mutL ομόλογο 1
hMSH6	human MutS (E. Coli) Homolog 6	MutS (E. Coli) Ομόλογο 6
HSP90	heat shock protein 90	πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90
Kb	kilobases	κιλοβάσεις
let-7	lethal-7	θανατηφόρο-7
long RNAs	long non-coding RNAs	Μακρά μη κωδικοποιητικά μικροRNAs
MiRNAs	microRNAs	μικροRNAs
MET	mesenchymal-to-epithelial transition	μεσεγχυματική σε επιθηλιακή μετατροπή
MMP2	Matrix Metalloproteinase 2	Μεταλλοπεπτιδάση 2 μεσοκυττάριας ουσίας
MMR DNA	DNA mismatch repair	Επιδιόρθωση ασυμβατότητας DNA
MTA1	Metastasis Associated 1 protein	Σχετιζόμενη με μετάσταση πρωτεΐνη 1
Mtor	mammalian target of rapamycin	στόχος της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά
Nt	nucleotides	Νουκλεοτίδια

oncomiRS	oncogenic microRNAs	Ογκογόνα miRs
PACT	Protein Activator of Interferon Induced Protein Kinase	Πρωτεϊνικός Ενεργοποιητής της Επαγόμενης από Ιντερφερόνη Πρωτεϊνική Κινάση
piRNAs	Piwi-interacting RNAs	Piwi αλληλεπιδρώντα RNAs
pre-RNAs	pre-microRNAs	Προ-miRs
pri-miRNAs	primary microRNAs	Πρόδρομα miRs
RISC	RNA induced Silencing Complex	RNA επαγόμενο σύμπλεγμα αποσίωσης
RLC	RNA loading complex	Σύμπλοκο φόρτωσης των RNAs
siRNAs	silencing RNAs	RNA σίγασης
snoRNAs	small nucleolar RNAs	Μικρά RNAs πυρηνίσκου
snRNAs	small nuclear RNAs	Μικρά πυρηνικά RNAs
SOX4	SRY (sex-determining region Y) related high mobility group box 4	Πρωτεΐνη 4 ομάδας υψηλής κινητικότητας που σχετίζεται με το SRY
ssRNA	single strand RNA	Μονόκλωνο RNA
targomiRs	miRNA mimics delivered by targeted bacterial minicells	Μιμητικά miRNAs που παρέχονται από στοχευμένα βακτηριακά μικροκύτταρα
TRBP	TAR (HIV) RNA-Binding Protein TRBP	Πρωτεΐνη TRBP δεσμεύουσα RNA TAR (HIV)
tRNA	transfer RNA	μεταφορικό RNA
Alu elements	<i>Arthrobacter luteus</i> (Alu) restriction endonuclease element (short stretch of DNA)	Στοιχείο (μικρής έκτασης του DNA)περιοριστικής ενδονουκλεάσης <i>Arthrobacter luteus</i> (Alu)
stRNAs	Small temporal RNAs	Μικρά χρονικά RNAs
GTP	guanosine triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
	cobblestone epithelium	Πλακώδες σαν πλακόστρωτο επιθήλιο
CLL	Chronic lymphocytic leukemia	Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία
HNPCC	Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer	Κληρονομικός μη-πολυποδιακός ορθοκολικός καρκίνος
TCGA	The Cancer Genome Atlas	Ο Άτλας του Γονιδιώματος του Καρκίνου
EEC	Endometrioid-type endometrial carcinoma	Καρκίνωμα ενδομητρίου ενδομητριοειδούς τύπου
SNPs	single nucleotide polymorphisms	Μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός

LHRH	Luteinizing hormone-releasing hormone receptor	Υποδοχέας απελευθέρωσης της ωχρινοτρόπου ορμόνης
HDAC	Histone deacetylases	Αποακετυλάσες ιστόνης
LncRNA	Long non-coding RNA	Μακρύ μη κωδικοποιητικό RNA
shRNAs	short hairpin RNAs	RNA μικρής φουρκέτας
miRNA sponges	MicroRNA sponges	Σφουγγάρια MicroRNAs
EMA	European Medicines Agency	Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων
TGFβ	Transforming growth factor beta	Τροποποιούμενος αυξητικός παράγοντας βήτα
HE4	Human epididymis protein 4	Ανθρώπινη πρωτεΐνη επιδιδυμίδας 4
NGS	Next-Generation Sequencing	Αλληλούχιση επόμενης γενιάς
TP53INP1	Tumor Protein P53 Inducible Nuclear Protein 1	Πυρηνική πρωτεΐνη όγκου P53 επάγουσα την πυρηνική πρωτεΐνη 1
SOX1	SRY-Box Transcription Factor 1	Συντελεστής μεταγραφής SRY-Box 1
FOXC1	Forkhead Box C1	Πρωτεΐνη με διακλαδούμενη κεφαλή Box 1
ZEB1/B2	Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1	Μεταγραφικός παράγοντας δέσμησης Zinc Finger E-Box
TWIST	Twist-related protein 1	Πρωτεΐνη που σχετίζεται με συστροφή 1
MYLK	Myosin light chain kinase, smooth muscle	Κινάση ελαφριάς αλυσίδας μυοσίνης, λείου μυ
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group	Ογκολογική Ομάδα Ακτινοθεραπείας
POLE mutations	Polymerase ε mutations	Μεταλλάξεις πολυμεράσης ε
NSMP	Non specific molecular profile	Μοριακό προφίλ μη ειδικό
H2AX	histone variant family member X	Διαφοροποίηση ιστόνης μέλους της οικογένειας X
LPH	Liposome- Protamine - Hyaluronic acid	Λιπόσωμα-Πρωταμίνη-Υαλουρονικό οξύ
scFV	single-chain variable fragment	Μεταβλητό θραύσμα μονής αλυσίδας

FIGO	The International Federation of Gynecology and Obstetrics	Η Διεθνής Ομοσπονδία Γυναικολογίας και Μαιευτικής
ceRNA	Competing endogenous RNA	Ανταγωνιστικό ενδογενές RNA

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε σε μια εκτενή έρευνα σχετική με το ρόλο και την λειτουργία των microRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου. Ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου είναι η πιο κοινή κακοήθεια του γυναικείου γεννητικού συστήματος στις ανεπτυγμένες χώρες και δεύτερη παγκοσμίως με αυξανόμενα ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας (Henley et al., 2018; Nothnick, 2016; Reed et al., 2018). Αν και αποτελεί έναν τύπο καρκίνου που εν γένει έχει συσχετιστεί με καλή πρόγνωση με μέσο όρο ηλικίας εμφάνισης τα 63 έτη, οι ασθενείς που παρουσιάζουν προχωρημένο στάδιο ή υποτροπιάζοντα καρκίνο έχουν χαμηλά ποσοστά επιβίωσης (National-Cancer-Institute, 2018). Η επιθετικότητα του εκάστοτε καρκίνου σχετίζεται κατά κύριο λόγο με την αρχιτεκτονική του ιστού και συνεπακόλουθα με το γενετικό προφίλ των ασθενών. Γενετικές μεταλλάξεις σχετικές με τα γονίδια PIK3CA, ARID1A και MUC16 συσχετίστηκαν με ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ οι μεταλλάξεις των TP53, Pol (στις πολυμεράσες του DNA) και PIK3R1 συσχετίστηκαν με κακή πρόγνωση (Althubiti, 2019; Billingsley et al., 2015; Hu & Sun, 2018). Χειρουργική αντιμετώπιση, ορμονικές θεραπείες, χημειοθεραπείες, ακτινοθεραπείες ή στοχευμένη θεραπεία με φάρμακα που στοχεύουν ορισμένες αλλαγές στα καρκινικά κύτταρα και δοκιμάζονται σε κλινικές δοκιμές είναι από τις θεραπευτικές προσεγγίσεις που ακολουθούνται σήμερα στο καρκίνο του ενδομητρίου (Roncolato et al., 2019). Τις τελευταίες δυο δεκαετίες, μετά την ανακάλυψη των miRNAs, παρατηρήθηκε μια ευρεία γκάμα χρήσης αυτών των μορίων στην έρευνα διαφόρων παθολογικών καταστάσεων και ιδίως του καρκίνου. Ως μικρά μονόκλωνα μη κωδικοποιητικά μόρια RNA που κατευθύνουν τη μετά-μεταγραφική καταστολή των mRNA-στόχων, φαίνονται να εμπλέκονται ενεργά στην απορρύθμιση της ισορροπίας των μεταγράφων σε παθολογικές καταστάσεις (Ha, 2011). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η αποσαφήνιση του γενικότερου ρόλου των miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου. Αυτό περιλαμβάνει προσπάθεια καλύτερης κατανόησης της χρήσης τους στην έγκαιρη διάγνωση, στην ακριβέστερη πρόγνωση και στην πρόβλεψη του προσδόκιμου επιβίωσης καθώς και πιθανές κλινικές εφαρμογές τους σε καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Προς αυτήν την κατεύθυνση, χρησιμοποιήθηκαν πλατφόρμες όπως οι γνωστές πλατφόρμες αναζήτησης έγκριτων επιστημονικών δημοσιεύσεων, Pubmed, Google Scholar, Cochrane library και άλλες, ενώ ανασκοπήσεις στατιστικών αποτελεσμάτων ανακλήθηκαν από πλατφόρμες όπως η Seer-stat USA database. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν τα miRNAs

που έχουν μη φυσιολογική έκφραση (αύξηση ή μείωση) στον καρκίνο του ενδομητρίου. Σε προχωρημένα στάδια, όπου παρατηρείται διήθηση λεμφαδένων ή αυξημένο μεταστατικό δυναμικό, συγκεκριμένοι συνδυασμοί miRNAs φαίνεται να εκφράζονται με συγκεκριμένα μοτίβα (Delangle et al., 2019)]. Τα miRNAs είναι αποτελεσματικοί βιοδείκτες για τον καρκίνο διαθέτοντας συγκεκριμένο προφίλ έκφρασης που οδηγεί στο «ταίριασμα» με συγκεκριμένα προφίλ έκφρασης mRNA-στόχων (Lawrie et al., 2008). Σε διαγνώσεις που πραγματοποιούνται σε προχωρημένα κλινικά στάδια ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου, μειώνονται οι πιθανότητες για 5ετή επιβίωση (μόλις 10-29%). Η ύπαρξη καλά μελετημένων miRNA-βιοδεικτών για έγκαιρη διάγνωση ιδιαίτερα του ενδομητριοειδούς αδενοκαρκινώματος είναι στις μέρες μας επιτακτική ανάγκη (Bansal et al., 2009). Πολλές φορές η συνεργιστική δράση και διερεύνηση του προτύπου έκφρασης ενός συνδυασμού miRNAs αναδύει την ύπαρξη συγκεκριμένου τύπου καρκίνου ή την επιθετικότητα του καρκίνου πιο εύκολα από την διερεύνηση κάθε miRNA ξεχωριστά. Μάλιστα, αυτός ο συνδυασμός miRNAs είναι πιο αποτελεσματικός στη διάγνωση από άλλους μελετημένους δείκτες όπως είναι το CA-125 (Montagnana et al., 2017). Εκτός της κλινικής τους χρησιμότητας ως βιοδείκτες, οι ερευνητές απέδειξαν με επιτυχία την δράση των miRNAs ως ευαισθητοποιητών όγκων σε φάρμακα (Di Stefano et al., 2016; Sin et al., 2016). Τα διαφορετικά miRNAs περιορίζονται σε ορισμένους τύπους όγκων, υποδεικνύοντας τις ειδικές για τον ιστό λειτουργίες τους στον καρκίνο (Balch et al., 2010).

Τα miRNAs θα αναλυθούν εκτεταμένα ως νέες στρατηγικές θεραπευτικές. Ήδη έχουν ξεκινήσει κλινικές δοκιμές με τη συσχέτιση miRNA και συγκεκριμένων παραλλαγών μεταλλάξεων στον καρκίνο του ενδομητρίου (Lee et al., 2014).

Το 2016 ξεκίνησε η ανάπτυξη εμβολίων βασισμένων σε miRNA τεχνολογία (miRNA-based vaccines) για ιϊκές λοιμώξεις με αντίκτυπο στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, στην επαγωγή σήματος και στην πρωτεϊνική σύνθεση δίνοντας ελπίδα και για τη χρήση τους στον καρκίνο (Yee & Poh, 2016). Πρόσθετα, ενδοφλέβια έγχυση τροποποιημένων νανοσωματιδίων, είναι δυνατόν να μεταφέρουν φάρμακα και άλλα παράγωγα όπως και πιθανότατα miRNAs σε καρκινικά κύτταρα αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής ρύθμισης.

Τα miRNAs είναι σχετικά ήπια σε σύγκριση με μοριακά στοχευμένα φάρμακα, αλλά πιθανώς αναστέλλουν την έκφραση πολλαπλών μορίων-στόχων και προκαλούν λιγότερες ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε φυσιολογικά κύτταρα. Έτσι, αναπτύχθηκαν τεχνολογίες που βασίζονται στην κατασκευή και χορήγηση μιμητικών αλληλουχιών ή κατασταλτικών αλληλου-

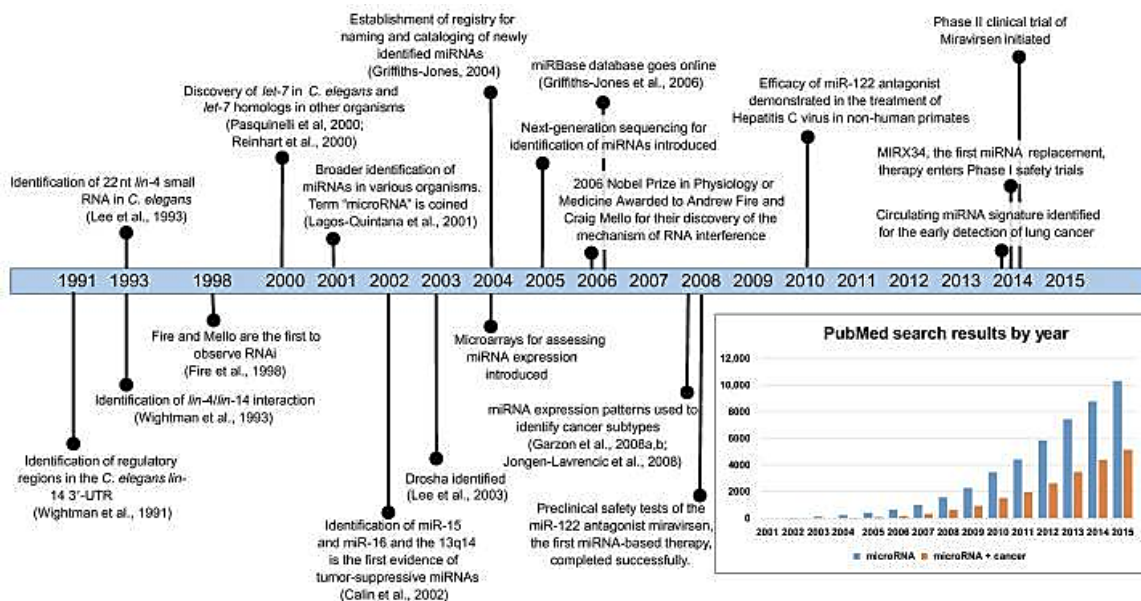
χιών των miRNAs με στόχο την ενίσχυση της παθολογικά μειωμένης ή αυξημένης έκφρασης κάποιων miRNAs (Winata et al., 2017).

Συμπερασματικά, το επιστημονικό πεδίο της έρευνας γύρω από τη διερεύνηση του ρόλου των miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου και άλλων καρκίνων είναι περίπλοκο αλλά πολλά υποσχόμενο για έγκαιρη διάγνωση, πρόγνωση και θεραπεία.

A ΜΕΡΟΣ: 1. Εισαγωγή

1.1. Ιστορική Αναδρομή-Ανακάλυψη μικρών RNAs (miRNAs)

Η πρόσφατη πρόοδος στον τομέα των microRNAs (miRNAs) εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από πολλαπλές ανακαλύψεις στον τομέα της βιολογίας των miRNAs κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Έμφαση δίνεται στις βασικές μελέτες που εντόπισαν τα πρώτα miRNAs στο *Caenorhabditis elegans* και στις πιο πρόσφατες αναφορές που έχουν τροφοδοτήσει την αναζήτηση της κατανόησης της χρήσης των miRNAs ως δεικτών για τη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου (εικ. 1). Από την ανακάλυψή τους, πριν από είκοσι οκτώ χρόνια, η γνώση σχετικά με τα miRNAs και τον καρκίνο αυξάνεται εκθετικά (>18.500 επισκέψεις στο PubMed που έχουν πρόσβαση τον Ιούνιο του 2015) και καθιέρωσε ένα νέο παράδειγμα που αμφισβήτησε το κεντρικό δόγμα της βιολογίας.



Εικόνα 1. Επιλεγμένες ιστορικές ανακαλύψεις που οδήγησαν συλλογικά στη μετάβαση των miRNAs στην κλινική πράξη. Τα επιλεγμένα χαρακτηριστικά οδηγούν στην διάκριση των miRNAs στη βιολογία, την εμπλοκή τους στον καρκίνο, και την πρόοδο σχετικά με τη θεραπεία του καρκίνου που βασίζεται σε miRNA-μόρια. (Weiss et al., 2017).

Το 1989, ο Richard Jorgensen, σε μια προσπάθεια κατασκευής φυτών πετούνιας με πιο σκούρα μωβ άνθη από τις υφιστάμενες ποικιλίες, εισήγαγε ένα επιπλέον γονίδιο (διαγονίδιο) βιοσύνθεσης της χρωστικής. Αυτό το γονίδιο όπως φάνηκε κωδικοποιούσε το ένζυμο συνθάση της χαλκόνης (chalcone synthase), υπό τον έλεγχο ενός ισχυρού υποκινητή. Ο φαι-

νότυπος αναμενόταν να είναι φυτά με πιο σκούρα μωβ άνθη. Παρόλα αυτά, τα άνθη παρουσίασαν ετερογένεια ως προς τη λευκότητα τους από έντονη πολυχρωμία έως αμιγή λευκότητα.

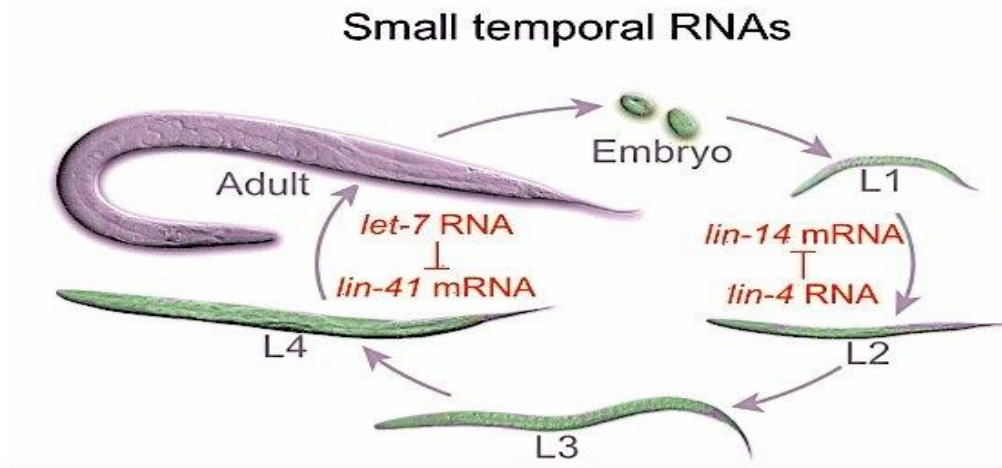
Συγκεκριμένα, όσο εντονότερη ήταν η έκφραση του διαγονιδίου (είτε η αυξημένη έκφραση οφειλόταν στην ύπαρξη πολλαπλών αντιγράφων του διαγονιδίου είτε στη χρήση ισχυρών υποκινητών έκφρασης του διαγονιδίου), τόσο πιο μειωμένο ήταν το επίπεδο έκφρασης της συνθάσης της χαλκόνης. Το φαινόμενο σίγασης της έκφρασης του διαγονιδίου και του ενδογενούς γονιδίου, ως αποτέλεσμα της υπερέκφρασης του διαγονιδίου, ονομάστηκε τότε συγκαταστολή (co-suppression) (Alberts, 2014).

Λίγα χρόνια αργότερα, εν έτει 1993, ο Victor Ambros και οι συνεργάτες του οδήγησαν στην ανακάλυψη του πρώτου μικρού RNA (του επονομαζόμενου και microRNA ή miRNA), lin-4 (abnormal cell lineage 41, ανώμαλη γενεαλογική σειρά 41), στο νηματώδη σκώληκα *C. elegans*, ύστερα από πειράματα που αποσαφηνίζουν τη χρονική διαδοχή των μετεμβρυϊκών σταδίων ανάπτυξης. Η παρατήρηση σχετικά με την παραγωγή ενός ζεύγους μικρών RNAs, το ένα μήκους 22 νουκλεοτιδίων (nucleotides, nt) και το άλλο περίπου 61 nt με ταυτόχρονο σχηματισμό δομής στελέχους-βρόχου, πρότεινε το τελευταίο μόριο ως πρόδρομο του πρώτου (Alberts, 2014; Lee et al., 1993). Έπειτα η ερευνητική ομάδα του Ambros συνεργαζόμενη με του Runkun παρατήρησε ότι το lin-4 RNA έχει αντίστροφη συμπληρωματικότητα με επτά συντηρημένες περιοχές στην 3'-μη μεταφραζόμενη περιοχή (3' UTR) του γονιδίου lin-14 (Wightman et al., 1993).

Το γονίδιο lin-14 κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη του πυρήνα και τα επίπεδα μειώνονται στο τέλος του πρώτου σταδίου (L1) της προνύμφης του *C. elegans* προκειμένου να γίνει η μετάβαση στο δεύτερο στάδιο (L2) της προνύμφης σύμφωνα με το πρότυπο ανάπτυξης. Το lin-4 φάνηκε να καταστέλλει τη LIN14 πρωτεΐνη χωρίς ταυτόχρονη αλλαγή στα επίπεδα του mRNA (Arasu et al., 1991). Όλα τα παραπάνω οδηγούσαν στην υπόθεση της δημιουργίας ενός μοντέλου για το ρυθμιστικό μονοπάτι που οδηγεί προς τη μετάβαση από το L1 στο L2 στάδιο σύμφωνα με το οποίο το lin-4 RNA ζευγαρώνει με τη 3'-UTR του mRNA lin-14 προκαλώντας μεταφραστική καταστολή του mRNA lin-14 (Bartel, 2004).

Επτά χρόνια αργότερα από την ανακάλυψη του lin4 ανακαλύφθηκε το δεύτερο miRNA, το let7 (lethal-7), το οποίο κωδικοποιεί ένα ρυθμιστικό μόριο RNA μήκους περίπου 22nt, το οποίο προάγει τη μετάβαση από το L4 στάδιο της προνύμφης στο στάδιο του ενηλίκου (νύμφη) του *C. elegans* κατ' αναλογία με τη δράση του γονιδίου lin-4 στη μετάβαση από το L1 στο L2 στάδιο της προνύμφης. Εκτός του *C. elegans*, το let-7 RNA ανιχνεύεται στον άνθρωπο, τη *Dro-*

sophila και σε έντεκα ακόμη δευτεροστόμια υποδεικνύοντας έναν υψηλά συντηρημένο μηχανισμό δράσης. Τα *lin-4* και *let-7* RNAs χαρακτηρίστηκαν ως μικρά μεταβατικά RNAs (stRNAs, small temporal RNAs)(εικ.2), λόγω των ομοιοτήτων του ρόλου τους στη ρύθμιση της χρονικής διαδοχής μεταξύ των αναπτυξιακών σταδίων του *C. Elegans* (Sokol, 2012).



Εικόνα 2. Ο κύκλος ζωής του *C.elegans* και οι πρώτες ανακαλύψεις miRNAs (Pichon et al, 2019).

Σε λιγότερο από ένα χρόνο ανακαλύφθηκαν περίπου 100 επιπλέον γονίδια στη *Drosophila*, στον άνθρωπο και το νηματώδη σκώληκα, που παράγουν μικρά, μη-κωδικοποιητικά RNAs και τα οποία εμφάνισαν κοινά χαρακτηριστικά με τα *lin-4* και *let-7* γονίδια, όπως το μήκος (από 21 έως 24 νουκλεοτίδια), η κοινή τους προέλευση από τον ένα βραχίονα ενός πρόδρομου μορίου με δομή στελέχους-βρόχου και η υψηλή τους συντήρηση στη διάρκεια της εξέλιξης μεταξύ οργανισμών. Η πλειοψηφία αυτών των αλληλουχιών δεν φαίνεται να εκφράζονται σε διακριτά αναπτυξιακά στάδια αλλά παρατηρείται η διαφορετική έκφρασή τους σε συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους. Ο όρος miRNA αποδίδει μια περιγραφή για τη νέα τάξη ρυθμιστικών μορίων RNAs, η οποία έχει αποδειχθεί να ρυθμίζει σχεδόν όλες τις λειτουργίες των ευκαρυωτικών κυττάρων είτε αποσταθεροποιώντας είτε προκαλώντας τη σίγαση στους mRNA-στόχους οδηγώντας στην επιθυμητή εξισορρόπηση των μεταγράφων.

1.2. miRNAs

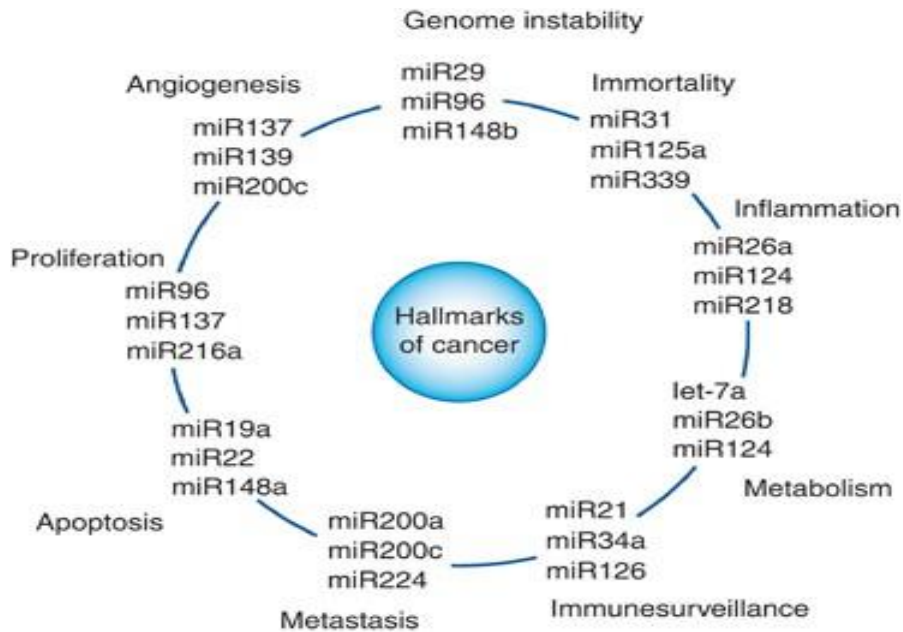
Με τον όρο miRNA αναφερόμαστε σε ένα μικρό μονόκλωνο μη κωδικοποιητικό μόριο RNA (που περιέχει περίπου 22 νουκλεοτίδια) που κατευθύνει τη μετα-μεταγραφική καταστολή των στόχων του mRNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα και μπορεί να ανιχνεύεται σε φυτά, ζώα

και ορισμένους ιούς. Συγκεκριμένα, λειτουργεί για τη σίγαση του RNA και στη μετα-μεταγραφική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Τα miRNAs λειτουργούν μέσω του κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων με συμπληρωματικές αλληλουχίες εντός μορίων mRNA-στόχων. Ως αποτέλεσμα, αυτά τα μόρια mRNA αποσιωπώνται, με μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες διαδικασίες:

- (1) διάσπαση του κλώνου mRNA σε δύο κομμάτια,
- (2) αποσταθεροποίηση του mRNA μέσω της βράχυνσης της ουράς πολυ(A) του mRNA και, (3) λιγότερο αποτελεσματική μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνες από ριβοσώματα (Bartel, 2009).

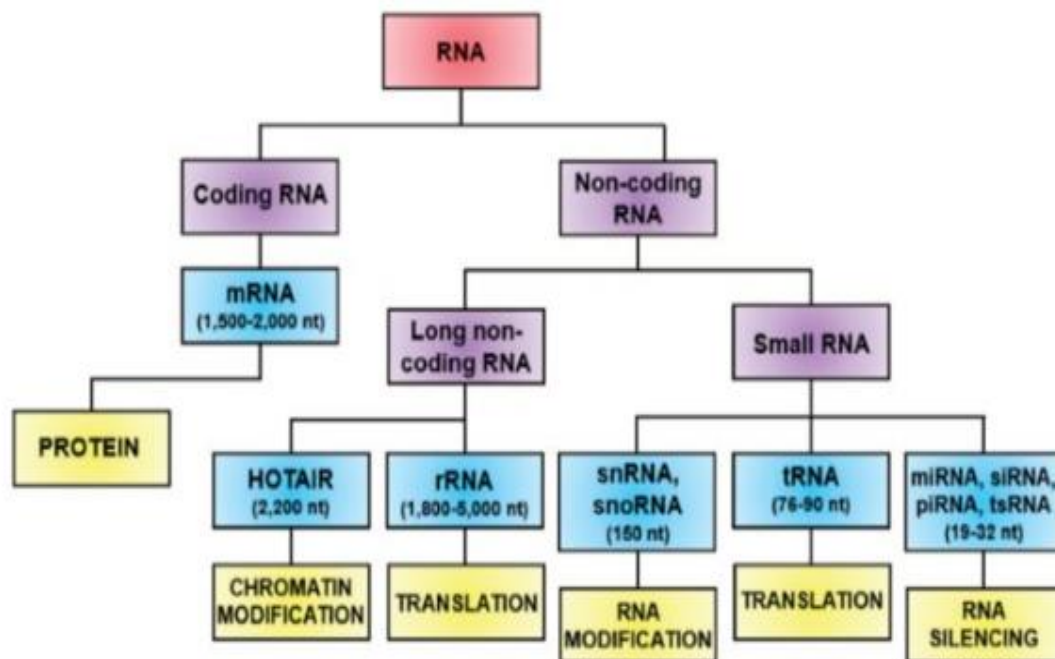
Δεκαετίες εκτεταμένης έρευνας δείχνει ότι η απορυθμισμένη έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων σε κρίσιμα ρυθμιστικά μονοπάτια ανάπτυξης αυξάνουν σημαντικά το δυναμικό της ογκογένεσης σε ανθρώπινες κακοήθειες. Αν και η κρατούσα άποψη είναι ότι η τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση σχετίζεται αιτιωδώς με τον καρκίνο σαν παθογένεση, οι βασικοί μηχανισμοί καρκινογένεσης είναι μακράν πιο περίπλοκοι.

Η πιο σημαντική διαπίστωση αφορά το ότι η παρεκκλίνουσα γονιδιακή έκφραση δεν είναι μόνο συνέπεια των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, αλλά και σε ένα μεγάλο ποσοστό διαμεσολαβείται, επιπροσθέτως, από τις μη κωδικοποιούσες αλληλουχίες στο ανθρώπινο γονιδίωμα που επηρεάζουν ποικίλους μηχανισμούς (εικ.3). Το μεταγράφημα της Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) κατέδειξε ότι μόνο ~ 1,2% του γονιδιώματος περιλαμβάνει γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, ενώ ~80% από αυτό φαίνεται να είναι μεταγραφικά ενεργά σε μη κωδικοποιούντα RNAs (ncRNAs), μερικά από τα οποία έχουν χαρακτηριστεί επαρκώς, και μερικά άλλα που βρίσκονται υπό διερεύνηση (Consortium, 2012). Αν και τα ncRNAs είχαν θεωρηθεί ως «μεταγραφικός θόρυβος», «ανεπιθύμητο DNA» ή «σκοτεινή γονιδιωματική ύλη», η έρευνα των δύο τελευταίων δεκαετιών παρείχε πειστικά και αδιάσειστα στοιχεία για την εμπλοκή τους σε διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου (Fang & Fullwood, 2016).



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση της συσχέτισης μεταξύ των miRNAs και των χαρακτηριστικών του καρκίνου. Κάθε χαρακτηριστικό δείχνει τρία παραδείγματα miRNAs που επηρεάζουν τη συγκεκριμένη κυτταρική λειτουργία σε ορισμένους τύπους καρκίνου. Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένα miRNAs επηρεάζουν περισσότερα από ένα χαρακτηριστικά που υποδεικνύουν τα πολλαπλά μονοπάτια που ρυθμίζονται από αυτά και τη συνεργιστική τους δράση Πηγή: (Pichler et al. 2015).

Σε γενικές γραμμές, όλα τα ncRNAs μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες με βάση το μέγεθος: μικρά ncRNAs (sncRNAs), τα οποία είναι μικρότερα από 200 νουκλεοτίδια και μακρά ncRNAs (lncRNAs) που είναι μεγαλύτερα από 200 νουκλεοτίδια. Η κατηγορία small RNAs περιλαμβάνει miRNAs, μεταφορικά RNAs (tRNAs), piwi-interacting RNAs (piRNAs), μικρά πυρηνικά RNAs (snoRNAs) (εικ.4) (Pauli et al., 2011). Τα non-coding RNAs αντιπροσωπεύουν ένα ανώτερο επίπεδο γονιδιακής ρύθμισης και είναι θεωρητικά ικανά να ελέγχουν την έκφραση πολλών γονιδίων στόχων.



Εικόνα 4. Οικογένεια των *small RNAs* Πηγή: (Pichon et al, 2019).

Λαμβάνοντας υπόψη την αναγνώριση και την ευρέως αποδεκτή εμπλοκή των βιολογικών ρόλων των ncRNAs σε διάφορες ασθένειες, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια υπήρξε συντονισμένη προσπάθεια αξιολόγησης της μεταφραστικής και κλινικής σημασίας των sncRNAs στις διάφορες παθολογικές καταστάσεις του ανθρώπου συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου (Crichton et al., 2020; Jung et al., 2020; Lane et al., 2020; Matsuyama et al., 2020; Toiyama et al., 2014; Tovar-Camargo et al., 2016). Δεδομένου ότι ένα sncRNA μπορεί να ελέγξει την έκφραση πολλών mRNA-στόχων σε μια ευρεία γκάμα καρκίνων έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες και κλινικές δοκιμές προς την κατεύθυνση της αξιοποίησης αυτής της πτυχής των ncRNAs εκτός από διαγνωστικών δεικτών και ως αντικαρκινικών θεραπευτικών μορίων. Η ανάπτυξη αυτών των μεθοδολογιών έχει αποκτήσει σημαντική δυναμική και είναι κλάδος δυνητικά ώριμος για καινοτομίες (Wen et al., 2015).

1.3. Βιογένεση των miRNAs

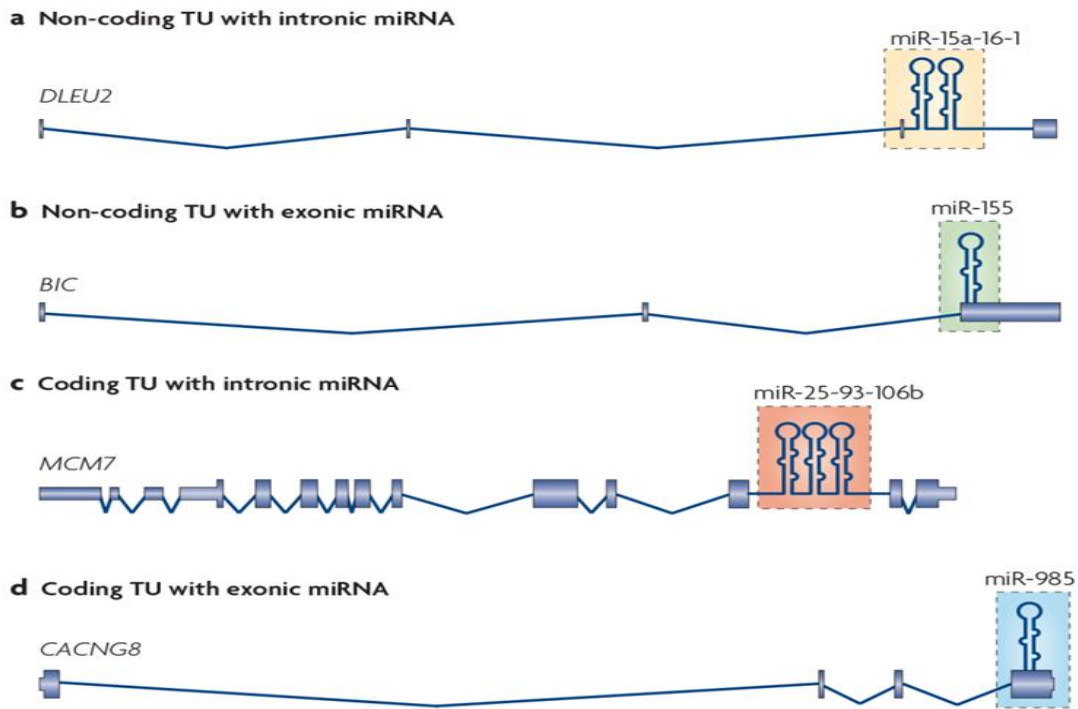
Τα miRNAs οφείλουν την προέλευσή τους σε ενδογενή μετάγραφα στελέχους-βρόχου (ή φουρκέτας) (Kim, 2005). Με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, σχηματίζουν ζεύγη βάσεων με τα mRNAs-στόχους, συνήθως στην 3' UTR αμετάφραστη περιοχή. Αυτό το ζευγάρι οδηγεί σε δυο αποτελέσματα, είτε σε μεταφραστική καταστολή είτε σε εξωνουκλεο-

τική αποικοδόμηση του mRNA. Τα μεγαλύτερα ποσοστά ταιριάσματος-συμπληρωματικότητας των miRNAs-mRNAs στόχων δείχνουν προτίμηση στην εξωνουκλεολυτική αποικοδόμηση. Επίσης, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις μεταφραστικής ενεργοποίησης και επαγωγής σχηματισμού ετεροχρωματινής μετά τη δράση των miRNAs. Στην παρούσα εργασία θα περιγραφεί η πορεία βιογένεσης των miRNAs στους ζωικούς οργανισμούς.

1.4. Μεταγραφή των miRNAs

Η RNA πολυμεράση φαίνεται να καταλύει τη μεταγραφή των περισσότερων γονιδίων των miRNAs (Lee et al., 2004). Μεθυλιωμένη γουανίνη στο 5' άκρο καλύπτει τα πρωτογενή μετάγραφα που προκύπτουν, τα οποία πολυαδενυλιώνονται στο 3' άκρο τους (Cai et al., 2004). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός του ότι ορισμένα miRNAs παράγονται από μεμονωμένες μεταγραφικές μονάδες με το δικό τους υποκινητή, ενώ η πλειονότητά τους παράγεται από πολυσιστρονικά μετάγραφα (κωδικοποιούν δηλαδή πολλαπλές πρωτεΐνες, καθεμία από τις οποίες μεταφράζεται από ένα ανεξάρτητο ανοικτό αναγνωστικό πλαίσιο), δηλαδή από μεταγραφικές μονάδες που δίνουν γένεση σε περισσότερα από ένα miRNAs (Lee et al., 2002).

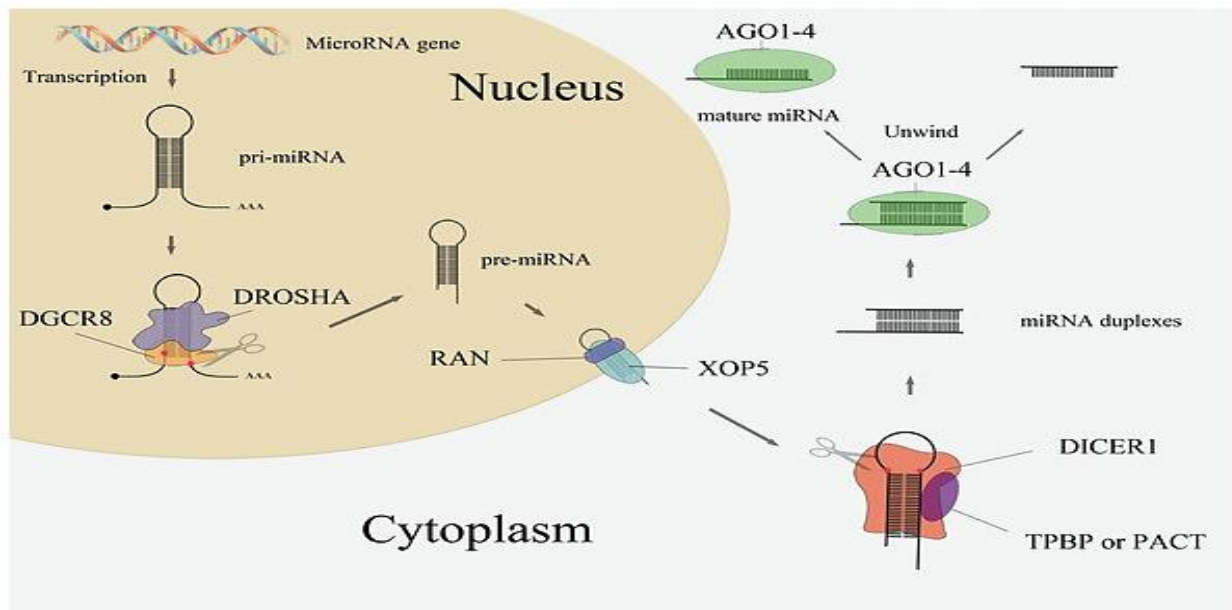
Ορισμένα miRNAs παράγονται από μη-κωδικοποιητικά και άλλα από κωδικοποιητικά μετάγραφα, ενώ το 40% των miRNAs εντοπίζονται σε εσώνια μη-κωδικοποιητικών μεταγράφων και μόλις το 10% σε εξώνια μη-κωδικοποιητικών μεταγραφικών μονάδων (εικ. 5). Τα miRNAs, που προκύπτουν από μετάγραφα που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, εδράζονται συνήθως σε περιοχές εσωνίων και αντιπροσωπεύουν το 40% όλων των γενετικών τόπων των miRNAs. Τέλος, είναι δυνατόν να προκύψουν «μεικτά» miRNAs-γονίδια που εντοπίζονται τόσο σε περιοχές εσωνίων, όσο και εξωνίων ανάλογα με το εναλλακτικό μάτισμα (splicing), που αποτελεί το στάδιο επεξεργασίας του RNA κατά το οποίο απομακρύνονται τα εσώνια και συνενώνονται τα εξώνια του μεταγράφου (Kim et al., 2009).



Εικόνα 5. Απεικόνιση του εντοπισμού στο γονιδίωμα και της δομής των γονιδίων των miRNAs. Τα miRNAs διακρίνονται σε 4 κατηγορίες ανάλογα με το που εδράζονται στο γονιδίωμα και το αν βρίσκονται σε εξώνια ή εσώνια. (a) Η συστάδα των miR-15a~16-1 εντοπίζεται σε εσώνιο του μη-κωδικού μεταγράφο του γονιδίου *DLEU2*. (b) Το miR-155 εδράζεται σε εξώνιο του μη-κωδικού μεταγράφο του γονιδίου *BIC*. (c) Η συστάδα των miR-25~93~106b βρίσκεται σε εσώνιο του μεταγράφο που κωδικοποιεί για τον πρωτεϊνικό παράγοντα *MCM7*. (d) Το miR-985 εντοπίζεται στο τελευταίο εξώνιο του πρωτεϊνικού γονιδίου *CACNG8* (Kim et al., 2009).

1.5. Ωρίμανση των miRNAs

Τα προκύπτοντα πρωταρχικά (πρωτογενή) μετάγραφα (pri-miRNAs) από την δράση της RNA πολυμεράσης II εντός του πυρήνα έχουν μήκος αρκετών κιλοβάσεων (kb), σχηματίζουν δομές φουρκέτας τα οποία στην πλειονότητά τους διαθέτουν poly(A) ουρά και 5' κάλυμμα όπως προαναφέρθηκε. Τα pri-miRNAs αποτελούν υπόστρωμα για την RNAάση Droscha και την πρωτεΐνη DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8), οι οποίες συναποτελούν το σύμπλοκο μικροεπεξεργασίας (microprocessor complex) (Gregory et al., 2004). Η DGCR8 πρωτεΐνη δεσμεύεται σε δίκλωνο RNA (dsRNA) και αναγνωρίζει τις πλευρικές αλληλουχίες του pri-miRNA επιτρέποντας την ασύμμετρη διάσπαση του στελέχους-βρόχου από την ριβονουκλεάση Droscha με αποτέλεσμα την τελική απελευθέρωση του νουκλεϊκού προϊόντος, του καλούμενου pre-miRNA (εικ. 6). Τα γονίδια των Droscha και DGCR8 φαίνεται να είναι συντηρημένα μόνο στο ζωικό βασίλειο και ρυθμίζουν η μία την άλλη μετα-μεταγραφικά. Το DGCR8 σταθεροποιεί την πρωτεΐνη Droscha μέσω αλληλεπίδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και αυτή η διασταυρούμενη ρύθμιση μεταξύ Droscha και DGCR8 μπορεί να συμβάλει στον ομοιοστατικό έλεγχο της βιογένεσης του miRNA (Han et al., 2009).



Εικόνα 6. Μονοπάτι βιογένεσης των miRNAs (He et al., 2016).

Από τη διάσπαση (cleavage) του pri-miRNA προκύπτουν δύο μη ζευγαρωμένα νουκλεοτίδια στο 3'-OH άκρο λόγω ασυμμετρίας. Προϋπόθεση για την ωρίμανση του πρώτου σταδίου μερικών miRNAs, αποτελεί η δράση πρόσθετων παραγόντων όπως το p68 και το p72. Η δημιουργία των pre-miRNAs μπορεί να πραγματοποιηθεί και μέσω της συρραφής μικρών εσώνίων με δυνατότητα σχηματισμού φουρκέτας προωθούμενη από τη συμπληρωματικότητα των 5' και 3' άκρων των εσώνίων. Το μονοπάτι αυτό είναι ανεξάρτητο της Drosha (Annese et al., 2020). Πολλά μη τυπικά Drosha/DGCR8-ανεξάρτητα μονοπάτια μπορούν να δημιουργήσουν φουρκέτες τύπου pre-miRNA τα οποία τελικά χρησιμεύουν ως υποστρώματα για την πρωτεΐνη Dicer. Εν γένει, τα mirtrons (τύπος microRNAs που εντοπίζονται στα εσώνια του mRNA που κωδικοποιούν τα γονίδια των ξενιστών), αποκόπτονται με μάτισμα και ευθυγραμμίζονται με αποελικύωση του βρόγχου (Yang & Lai, 2011).

Τα πρωτογενή μετάγραφα, pri-miRNAs (primary-miRNAs), που παράγονται από την RNA πολυμεράση II, τα οποία έχουν μήκος αρκετών κιλοβάσεων (kilobases, kb), φαίνεται να περιέχουν δευτεροταγείς δομές στελέχους-θηλιάς ή φουρκέτας. Στο 33bp (base pair, ζεύγος βάσεων) στέλεχος που σχηματίζεται παρουσιάζεται απουσία πλήρους συμπληρωματικότητας μεταξύ των βάσεων δύο κλώνων που το απαρτίζουν κι επομένως, εμπεριέχονται ασύμβατα ταιριάσματα (ελλειπίς συζεύξεις) και τα αταίριαστα ζεύγη βάσεων που σχηματίζουν διογκώσεις (Bartel, 2004). Μία θηλιά μεταβλητού μεγέθους (συνήθως 10 νουκλεοτιδίων σε μήκος) που σχηματίζεται στην κορυφή του στελέχους, φαίνεται να μην έχει αντίκτυπο στις επακό-

λουθες αντιδράσεις ωρίμανσης. Τέλος, στη βάση του στελέχους υπάρχει μια περιοχή μονόκλωνου RNA - ssRNA (τμήμα βάσης), το οποίο δεν εμφανίζει κανενός είδους δευτεροταγή δομή, και εκτείνεται εκατέρωθεν της δομής στελέχους-θηλιάς, περιβάλλοντάς την εκατέρωθεν των δύο άκρων (5' - και 3'-) (Alberts, 2014).

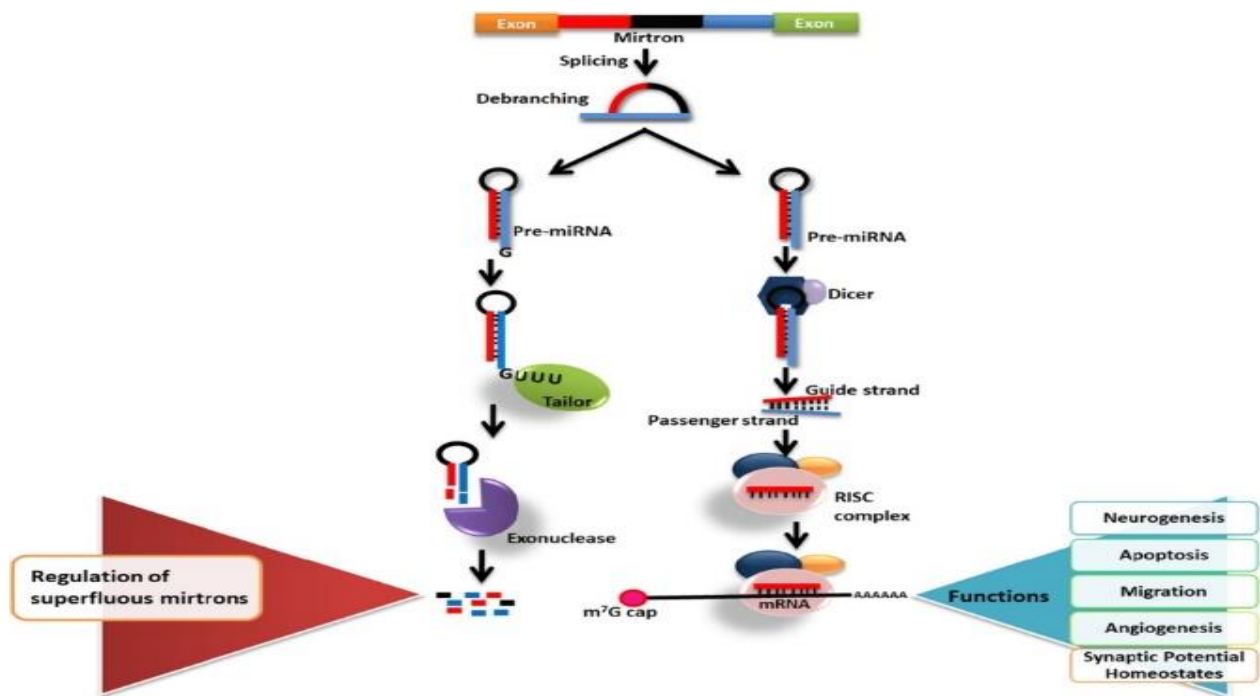
Συνοπτικά, τα pri-miRNAs απαρτίζονται από ένα στέλεχος μήκους περίπου 33 bp, μία τελική θηλιά και μονόκλινα τμήματα (ssRNA) που πλαισιώνουν τη βάση του στελέχους αποτελώντας σημαντική προϋπόθεση για την κατάλυση από τη Droscha. Υποπεριοχές/λειτουργικά τμήματα του στελέχους είναι δύο: ένα μικρότερο (“καθοδικό”) στέλεχος μήκους περίπου 11 bp και ένα μεγαλύτερο (“ανοδικό”) στέλεχος μήκους περίπου 22 bp. Η Droscha καθοδηγείται στο σωστό σημείο της απόσχισης για την αντίδραση τομής από την αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης DGCR8 με τα pri-miRNAs δρώντας ως ένας μοριακός κανόνας (Han et al., 2006).

Πιο συγκεκριμένα, η Droscha πραγματοποιεί την τομή σε καθένα από τους δύο βραχίονες του στελέχους των pri-miRNAs και απομακρύνει τα 11 bp από τη σύνδεση ssRNA-dsRNA, οποία και αντιστοιχεί ακριβώς στο μήκος ενός βήματος της έλικας του dsRNA και αποτελεί το μικρότερο μήκος που μπορεί να επεξεργαστεί μια RNάση τύπου III. Τα προαναφερθέντα καθιστούν σαφές ότι υπάρχει μεγάλη ακρίβεια ως προς το άκρο του προϊόντος της αντίδρασης που καταλύεται από την RNάση Droscha (Han et al., 2004). Παράλληλα με τις διαδικασίες μεταγραφής μπορεί να επακολουθεί και η επεξεργασία των pri-miRNAs (Han et al., 2010).

Έχει βρεθεί ότι για τα miRNAs που εντοπίζονται σε περιοχές εσωνίων, η επεξεργασία τους από την RNάση Droscha προηγείται της εκτομής των εσωνίων και συρραφής των εξωνίων των pre-mRNAs (Kim & Kim, 2007). Για τα pri-miRNAs που εντοπίζονται σε εξώνια, η επεξεργασία από την RNάση Droscha μπορεί να αποσταθεροποιήσει το μετάγραφο και να μειώσει κατ'επέκταση την ποσότητα της πρωτεΐνης που θα συντεθεί (Han et al., 2009).

Έχουν παρατηρηθεί miRNA ομοιάζοντα με RNAs που εντοπίζονται σε εσώνια γονιδίων των θηλαστικών και της *D. Melanogaster* (Lu et al., 2008; Nozawa et al., 2010). Αυτά τα μικρά (small) RNAs, σε αντίθεση με τα τυπικά miRNAs, παρακάμπτουν το πρώτο βήμα επεξεργασίας από τη Droscha. Με την ολοκλήρωση της εκτομής των εσωνίων και συρραφής των εξωνίων, το σημείο διακλάδωσης του εσωνίου με δομή θηλιάς (lariat) ξετυλίγεται και το εσώνιο χωρίς πλέον τη διακλάδωση σχηματίζει μια δομή φουρκέτας, με στέλεχος και θηλιά, που μοιάζει με τη δομή των pre-miRNAs. Ορισμένα απ' αυτά τα RNAs, που ονομάζονται mirtrons, αποτελούν το 15% του συνόλου των miRNAs και περιέχουν ουρές είτε στο 5' είτε στο 3' άκρο τους και, ως εκ τούτου, απαιτούν εξωνουκλεολυτική αφαίρεση τους προκειμένου να μπορέσουν να εξέλθουν του πυρή-

να (εικ. 7). Τα mirtrons παράγονται με έναν τρόπο εξαρτώμενο του εναλλακτικού ματίσματος και ταυτόχρονα ανεξάρτητο του ενζύμου Drosha (Salim et al., 2021).



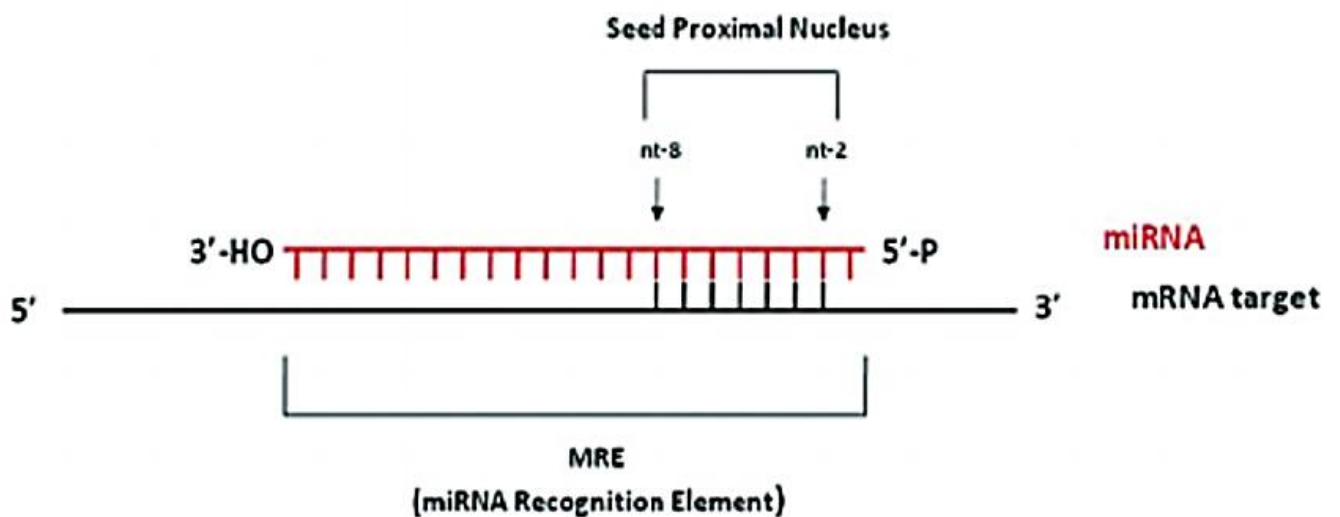
Εικόνα 7. Επισκόπηση της επεξεργασίας, της ρύθμισης και των λειτουργιών των mirtrons (Salim et al, 2022).

Μετά την επεξεργασία στον πυρήνα, τα πρόδρομα pre-miRNAs μετακινούνται στο κυτταρόπλασμα (Kim, 2004). Η εξπορτίνη 5 (EXP5) που είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχών πυρηνικής μεταφοράς μεσολαβεί στη μεταφορά με την πρόσδεση της στον πυρήνα συγχρόνως με το υπόστρωμα και τη δεσμευμένη με GTP (τριφωσφορική γουανίνη) μορφή του συμπαραγόνα Ran (πρωτεΐνη) απελευθερώνοντας το υπόστρωμα στο κυτταρόπλασμα αφού υδρολυθεί το GTP. Δομές dsRNA μήκους τουλάχιστον 14 bp με βραχείες προεξοχές στο 3' άκρο (1-8 nt), χαρακτηριστικά που διαθέτουν τα pre-miRNAs αναγνωρίζονται από την EXP5 (Zeng & Cullen, 2004).

Η RNάση Dicer είναι μια πρωτεΐνη που εμφανίζει υψηλή συντήρηση και εντοπίζεται σχεδόν σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Ορισμένοι οργανισμοί διαθέτουν δύο ή περισσότερους ισοτύπους του ενζύμου. Επι παραδείγματι, στη *Drosophila* η Dicer 1 συμμετέχει στο μονοπάτι βιογένεσης των miRNAs, ενώ η Dicer 2 εμπλέκεται στην παραγωγή των siRNAs (Förstemann et al., 2005; Jiang et al., 2005). Αρχικά, τα RNAs σχηματίζουν ένα pre-RISC (σύμπλοκο αποσιώπησης επαγόμενο από RNA) σύμπλοκο με την Dicer, βοηθούμενο από την Hsc70/Hsp90 chaperone μηχανή (Iki et al., 2010; Iwasaki et al., 2010; Miyoshi et al., 2010). Το

RNA διασπάται στη συνέχεια από την Dicer, σε αλληλεπίδραση με δύο διαφορετικές πρωτεΐνες που δεσμεύουν dsRNA, την TRBP (πρωτεΐνη που δεσμεύει το RNA) και την PACT (ενεργοποιητής πρωτεΐνης του PKR) (Althubiti, 2019).

Το ενεργοποιημένο σύμπλοκο RISC στη συνέχεια αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη θέση στο μόριο-στόχο με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων σε όλο το μονόκλωνο μόριο RNA οδηγού (Tolia & Joshua-Tor, 2007). Η συμπληρωματικότητα του στόχου mRNA με το miRNA πραγματοποιείται μέσω αλληλουχίας στοιχείων αναγνώρισης miRNA (MREs) που βρίσκονται στο mRNA τους, συνήθως στο 3'-UTR, μέσω μιας κρίσιμης περιοχής που ονομάζεται «seed region» που περιλαμβάνει 2-8 νουκλεοτίδια από το 5-άκρο του miRNA (εικ.8).



Εικόνα 8. Δέσμευση του miRNA στο mRNA-στόχο (K. N. Felekis, 2010).

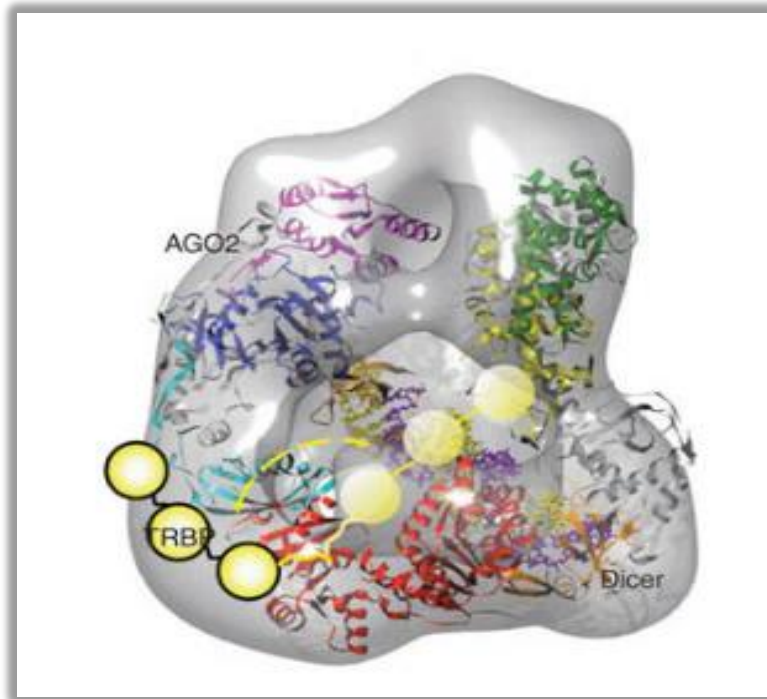
Τα προκύπτοντα συνδεδεμένα με RISC miRNAs ή siRNAs οδηγούν είτε σε μεταγραφική αποδόμηση συμπληρωματικών RNAs είτε σε μεταφραστική αναστολή μερικών συμπληρωματικών mRNAs στόχων με μετα-μεταγραφική σίγαση γονιδίου στο κυτταρόπλασμα, ανάλογα με τη φύση και τον βαθμό της συμπληρωματικότητας (Höck et al., 2007; Pillai et al., 2007).

1.6. Συγκρότηση και συναρμολόγηση του συμπλόκου miRISC

Με την ολοκλήρωση του δευτέρου βήματος ωρίμανσης των pri-miRNAs σε pre-miRNAs, το νουκλεοτιδικό προϊόν είναι ένα δίκλωνο μόριο RNA μήκους περίπου 22 nt το οποίο φορτώνεται σε μια πρωτεΐνη AGO για να σχηματιστεί ένα ενεργό σύμπλοκο RISC. Όπως προαναφέρ-

θηκε, μόνο η μία αλυσίδα του δίκλωνου μορίου παραμένει στην πρωτεΐνη AGO ως το ώριμο miRNA και ονομάζεται αλυσίδα «οδηγός» (guide strand), ενώ η άλλη αλυσίδα, γνωστή ως αλυσίδα «επιβάτης» (passenger strand), απορρίπτεται. Αναλυτικότερα, η επιλογή της αλυσίδας που θα παραμείνει προσδεδεμένη στην πρωτεΐνη AGO δεν αποτελεί τυχαίο φαινόμενο. Μελέτες έχουν δείξει ότι η σχετική θερμοδυναμική σταθερότητα των δύο άκρων του δίκλωνου μορίου μήκους guide strand: passenger strand είναι καθοριστική για την επιλογή της αλυσίδας που θα επιλεγεί ως καθοδηγητής και το φαινόμενο ονομάζεται κανόνας της ασυμμετρίας (Medley et al., 2021).

Οι AGO πρωτεΐνες χαρακτηρίζονται από τέσσερις διακριτές θέσεις (domain) και έχουν χαρακτηριστική δίλοβη δομή. Ο ένας λοβός αποτελείται από τις θέσεις N-PAZ και ο άλλος MID-PIWI. Το 5' άκρο του κλώνου που φορτώνεται στον Αργοναύτη είναι ενσωματωμένο σε μια αύλακα που σχηματίζεται από τη σύνδεση των τομέων MID και PIWI, ενώ το 3' άκρο βρίσκεται σε μια υδρόφοβη κοιλότητα που δημιουργείται από την επικράτεια PAZ. Επειδή η επιλογή της αλυσίδας δεν είναι μία αυστηρά ακριβής διαδικασία, ορισμένες φορές παράγονται miRNAs και από τις δύο αλυσίδες του δίκλωνου RNA σε περίπου ίσες συχνότητες.



Εικόνα 9. Προτεινόμενο μοντέλο του ανθρώπινου RISC complex (Wang et al., 2009)

Ενώ η φόρτωση του miRNA duplex στους AGOs είναι μια ενεργή διαδικασία που απαιτεί ATP, το ξετύλιγμα των miRNA duplex συμβαίνει με έναν παθητικό, ανεξάρτητο από ATP τρόπο (Yoda et al., 2010). Η Ν-επικράτεια των AGOs είναι ικανή να υποστεί διαμορφωτικές αλλαγές κατά τη σύνδεση στο duplex του miRNA την απελευθέρωση του κλώνου (Boland et al., 2011). Συνεπώς, η ονοματολογία guide strand: passenger strand για την αλυσίδα “οδηγό” και την αλυσίδα “επιβάτης” αντίστοιχα θεωρείται πλέον ξεπερασμένη και χρησιμοποιούνται οι καταλήξεις -5p και -3p που απλώς δηλώνουν αν το ώριμο miRNA προέρχεται από τον ένα ή τον άλλο βραχίονα του πρόδρομου μορίου.

Σε πολλούς οργανισμούς, έχει παρατηρηθεί η απευθείας αλληλεπίδραση των AGOs με τις RNάσες Dicer και η επιλογή της αλυσίδας λαμβάνει χώρα σε τέτοια σύμπλοκα (Meister et al., 2005) (Gregory, Chendrimada, Cooch, & Shiekhattar, 2005). Επιπροσθέτως, οι RNάσες Dicer δημιουργούν σύμπλοκα με πρωτεΐνες που περιέχουν θέσεις (domains) dsRBDs. Στη *D. melanogaster*, υπάρχει η Dicer 1 που αναλαμβάνει την επεξεργασία των pre-miRNAs και φορτώνει την AGO1, ενώ η Dicer 2 τέμνει τα πλήρως ζευγαρωμένα και μεγάλου μήκους dsRNAs και φορτώνει τα siRNAs στην AGO2 (εικ. 9). Τα σύμπλοκα που εμπεριέχουν την Dicer και έχουν απομονωθεί είχαν ~500 kDa πρωτεϊνικό βάρος και είναι αποτελούμενα από Dicer-TRBP-Ago2. Στα θηλαστικά, εκτός της TRBP (Tar-Rna Binding Protein), η πρωτεΐνη με dsRBDs,

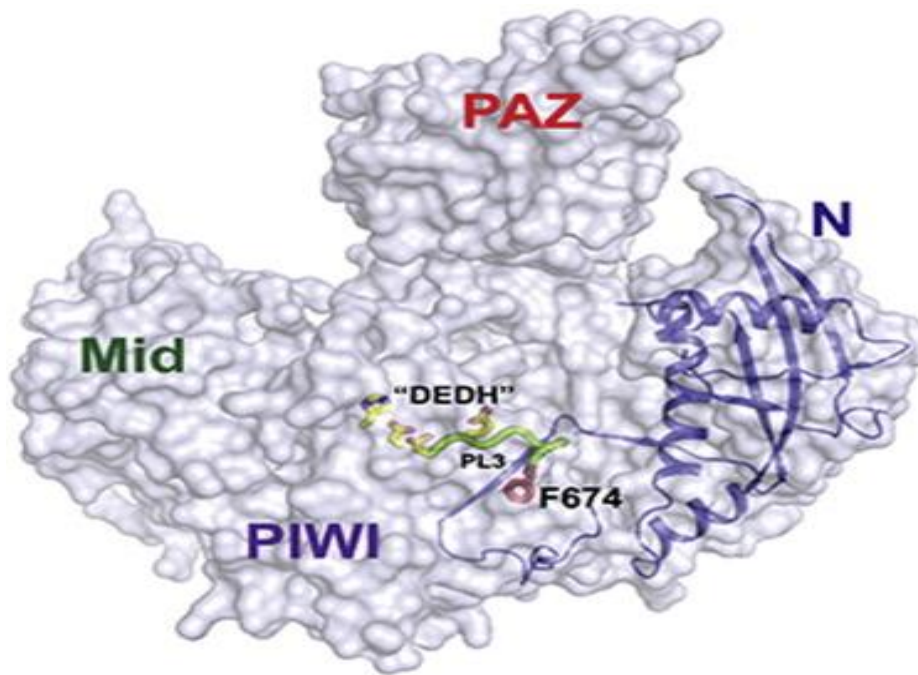
η PACT, έχει αποδειχτεί ότι αλληλεπιδρούν με την Dicer, εμπλέκονται στην βιογένεση των miRNAs και είναι σημαντικοί ρυθμιστικοί παράγοντες που συμβάλλουν τόσο στην εξειδίκευση του υποστρώματος όσο και στη διάσπαση κατά την παραγωγή του miRNA και του siRNA (Lee et al., 2013), (Jin et al., 2021). Η πρωτεΐνη TRBP αποτελεί αισθητήρα ασυμμετρίας ως προς τη σταθερότητα των άκρων του guide strand: passenger strand δίκλωνου μορίου.

Στην Dicer περιέχονται δύο διαφορετικές θέσεις πρόσδεσης για RNA:

α) στη μια θέση τοποθετείται το pre-miRNA για να ακολουθήσει η αντίδραση τομής που απομακρύνει τη θηλιά και β) στην άλλη θέση επανατοποθετείται πλέον ως guide strand: passenger strand δίκλωνο μόριο με τη βοήθεια της πρωτεΐνης TRBP. Η συμπλοκοποίηση των πρωτεϊνών Dicer, TRBP και AGO έχει ως συνέπεια το σχηματισμό ενός στοιχειώδους συμπλόκου φόρτωσης του RISC (RISC-loading complex, RLC). Εντός του RLC το δίκλωνο μόριο guide strand: passenger strand φορτώνεται στην AGO και η διαδικασία αυτή μεσολαβείται από ένα πολύπρωτεϊνικό σύμπλοκο τσαπερόνης Hsc70-Hsp90 (heat shock cognate protein 70kDa-heat shock protein 90) στη *D. melanogaster* ή HSP90 στους ανθρώπους. Αυτό το σύμπλοκο υδρολύει ATP για να κρατήσει τις AGO πρωτεΐνες σε μια ανοιχτή μορφή, ώστε να μπορέσουν να φιλοξενήσουν το δίκλωνο μόριο guide strand: passenger strand πραγματοποιώντας την ενδοουκλεολυτική τους δράση (Iwasaki et al., 2010; Jin et al., 2021).

Στη συνέχεια, το δίκλωνο μόριο ξετυλίγεται και η αλυσίδα guide strand απορρίπτεται (Kwak & Tomari, 2012). Στερεοδιαταξικές αναδιαμορφώσεις που συμβαίνουν στην πρωτεΐνη AGO οδηγούν την αμινοτελική θέση (domain) να σφηνωθεί μεταξύ των δύο αλυσίδων του δίκλωνου μορίου guide strand: passenger strand, προκαλώντας με αυτό τον τρόπο το ξετύλιγμα και το άνοιγμα της δίκλωνης δομής. Αναφορές έχουν γίνει στην ικανότητα των AGO πρωτεϊνών να απομακρύνουν τη μια από τις δύο αλυσίδες. Ελικάσες, όπως επί παραδείγματι η RNA ελικάση A (RHA), έχουν προταθεί ως πιθανοί παράγοντες ξετυλίγματος του δίκλωνου guide strand: passenger strand σε ανθρώπινα κύτταρα καθώς και στη *D. melanogaster* (Robb & Rana, 2007).

Δίκλινα μόρια guide strand: passenger strand με απόλυτη συμπληρωματικότητα χωρίς εμφάνιση λανθασμένων συζεύξεων τέμνονται από καταλυτικά ενεργές AGO πρωτεΐνες, όπως η AGO2 στα θηλαστικά που φέρει την καταλυτική τετράδα DEDH (εικ.10) (Park et al., 2017).



Εικόνα 10. DEDH καταλυτική τετράδα του AGO2 (Faehnle et al., 2013).

Το AGO3 έχει επίσης δραστηριότητα τομής, αλλά με πιο περίπλοκες απαιτήσεις υποστρώματος, ενώ έχει διατηρήσει τα απαραίτητα καταλυτικά κατάλοιπα καθ' όλη την εξέλιξή του. Αυτή η δραστηριότητα του AGO2 και εν μέρει του AGO3 οδηγεί στο αποδοτικό φόρτωμα των καταλυτικά ενεργών AGO πρωτεϊνών με miRNAs. Οι AGO πρωτεΐνες που δεν είναι καταλυτικά ενεργές επίσης φορτώνονται, αλλά απαιτούν περισσότερο χρόνο για την απομάκρυνση της αλυσίδας “επιβάτη”. Στη *D. melanogaster* και τον άνθρωπο, η αλυσίδα “επιβάτης”, που τέμνεται από την AGO2, απομακρύνεται από το σύμπλοκο φόρτωσης του RISC (RLC) με τη δράση της ενδονουκλεάσης C3PO (γνωστή και ως tanslin). Η C3PO αλληλεπιδρά με την AGO2 και ενεργοποιεί το RISC για να ασκήσει τη δράση του στα mRNA-στόχους του (Ye et al., 2011). Δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αν η C3PO λειτουργεί επίσης με τις μη-καταλυτικές AGO πρωτεΐνες.

Συμπερασματικά, βάσει των μέχρι σήμερα δεδομένων, ένα στοιχειώδες σύμπλοκο RLC περιλαμβάνει την RNάση τύπου III Dicer, μία πρωτεΐνη δέσμησης dsRNA, το σύστημα HSC70-HSP90 και την AGO πρωτεΐνη. Εντούτοις, είναι πολύ πιθανό επιπρόσθετοι παράγοντες, ανάλογα με το είδος του οργανισμού, να επηρεάζουν τη διαδικασία φόρτωσης του RISC.

Τέλος, σημαντική να αναφερθεί είναι η κατάδειξη μιας άλλης μοριακής λειτουργίας της ενεργοποίησης της MAP κινάσης ERK με τη μεσολάβηση της E-καντχερίνης στη ρύθμιση

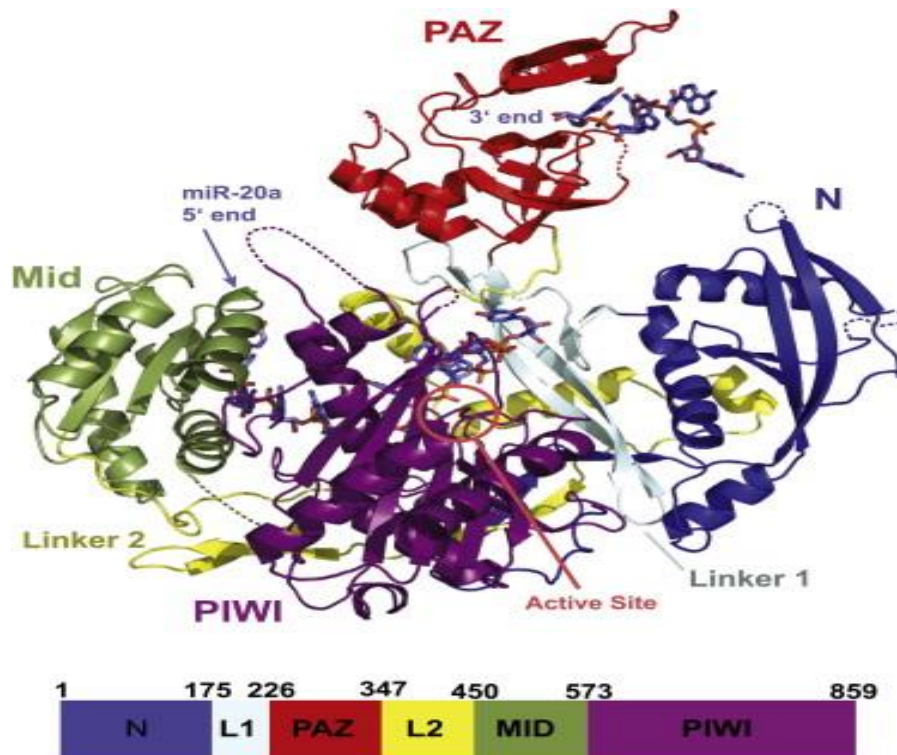
της σταθερότητας της πρωτεΐνης AGO2 και της επακόλουθης ενισχυμένης δραστηριότητας του RLC.

Εκτός της E-καντχερίνης, το σύμπλοκο RLC στα θηλαστικά σχετίζεται με διάφορες πρωτεΐνες. Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες Gemin3, Gemin4, Mon10 και Imp8 αλληλεπιδρούν με την AGO2 (Gibbings et al., 2012) (Kenny et al., 2014; Weinmann et al., 2009). Οι πρωτεΐνες GW182 αλληλεπιδρούν επίσης με την AGO2. Οι πρωτεΐνες GW182 περιέχουν επαναλήψεις γλυκίνης-τρυπτοφάνης και στρατολογούν στο miRISC σύμπλοκο πρωτεΐνες που προκαλούν την αποικοδόμηση ή τη μεταφραστική καταστολή του mRNA-στόχου (Yao et al., 2011). Το 2019, ο Perconti και οι συνεργάτες του με RIP-Chip ανάλυση έδειξαν ότι δεδομένου του κύριου ρόλου του GW182 στα σώματα GW/P, τα δεδομένα μας υποδηλώνουν ότι το AGO2-GW182 RISC στρατολογεί γονίδια με βάση τις θέσεις δέσμησης των miRNAs στην περιοχή 3'UTR και κωδικοποίησης, αλλά μόνο τα μακρύτερα mRNAs παραμένουν πιθανώς δεσμευμένα στο GW/P-σώματα, τα οποία λειτουργούν ως «αποθήκη» για μεταφραστικά αποσιωπημένα RNAs. Συνεπώς, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι το σύμπλοκο RISC μπορεί να απαρτίζεται από το εκάστοτε miRNA, την πρωτεΐνη AGO και μια πρωτεΐνη GW182.

2. Πρωτεΐνες Αργοναύτες (AGOs)

Οι πρωτεΐνες Argonautes (AGO) εντοπίστηκαν αρχικά λόγω της εμπλοκής τους στην ανάπτυξη των φυτών και της διαίρεσης βλαστικών κυττάρων σε μύγες. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, πραγματοποιήθηκε εκτεταμένη έρευνα με στόχο τον εντοπισμό του λειτουργικού μηχανισμού των AGOs. Μέσω αυτής της διαδικασίας, ο ρόλος τους ως βασικών συστατικών του RISC αποκαλύφθηκε σε θηλαστικά και σε άλλους οργανισμούς. Ο AGO2 υπαγορεύει τη μεταγραφική σίγαση του γονιδίου με καταστολή των mRNA-στόχων μέσω μικρού βαθμού συμπληρωματικότητας (Shmushkovich et al., 2018). Η υπερ-οικογένεια AGO παρουσιάζει υψηλή εξελικτική συντήρηση και εκφράζεται καθολικά. Μπορεί να υποδιαιρεθεί σε υποοικογένειες AGO, PIWI και SAGO (Hutvagner & Simard, 2008). Η υποοικογένεια AGO περιλαμβάνει τέσσερα διαφορετικά μόρια στον άνθρωπο, AGO1, AGO2, AGO3 και AGO4 με εξαιρετικά υψηλή ομολογία μεταξύ των μελών, η οποία υπερβαίνει το 80% σε όλο το μήκος της πρωτεΐνης. Μοιράζονται τις ίδιες επικράτειες (domains), τις καλούμενες N, MID, PAZ και PIWI (εικ. 11). Ως εκ τούτου, γίνεται προφανές ότι η διάκριση μεταξύ των μελών της υποοικογένειας AGO αποτελεί ένα δύσκολο και διφορούμενο πεδίο. Οι λειτουργίες τους μπορεί να είναι αλ-

ληλεπικαλυπτόμενες ή/και αμοιβαία αντισταθμιστικές όταν χρειάζεται (Matsui et al., 2015; Su et al., 2009).



Εικόνα 11. Σχηματική αναπαράσταση του συμπλέγματος *hAgo2-miR-20a*. Η επικράτεια N εμφανίζεται με μπλε, η επικράτεια PAZ με κόκκινο, η επικράτεια MID με πράσινο και η επικράτεια PIWI με μωβ. Το miRNA εμφανίζεται σε αναπαράσταση «μοχλού». Το 5' άκρο του miR-20a είναι συνδεδεμένο στην επικράτεια MID. Τα νουκλεοτίδια 2 έως 10 ακολουθούν κατά μήκος την αύλακα δέσμευσης RNA και τα νουκλεοτίδια 17 έως 20 συνδέονται με την περιοχή PAZ (Joshua-Tor, 2022).

Το AGO1 φαίνεται να εκτελεί έναν πιο επικουρικό ρόλο στην αποσιώπηση γονιδίων, ενώ το AGO4 φαίνεται να ελέγχει την είσοδο στη μείωση και τη σίγαση των φυλετικών χρωμοσωμάτων, σε γενετικές σειρές ποντικών (Faehnle et al., 2013; Jan et al., 2017; Modzelewski et al., 2012). Αν και στους ανθρώπους, μόνο το AGO2 φάνηκε να έχει αμιγώς καταλυτική ενεργότητα ενδονουκλεάσης και σταθεροποιητικής ενεργότητας των miRNAs, πρόσφατα ανακαλύφθηκε μία επιλεκτικά καταλυτική ενεργότητα διάσπασης του AGO3 (Park et al., 2017). Το AGO3 έχει επίσης εμπλακεί στην αποικοδόμηση του mRNA μέσω στοιχείων Alu (είναι πρωτεύουσες-εξειδικευμένες επαναλήψεις βάσεων που αποτελούν το 11% του γονιδιώματος του ανθρώπου έχοντας μεγάλη επίδραση στην έκφραση των γονιδίων, και συμβάλλοντας στην εξέλιξη του γονιδιώματος, στον έλεγχο της κανονικής λειτουργίας των γονιδίων και της ανάπτυξης των νόσων) που κατευθύνονται από το RNA (Qi et al., 2008). Το ίδιο καλά διατηρημένο μοτίβο στο καταλυτικό κέντρο, υπεύθυνο για τη δραστηριότητα της διάσπασης, μοι-

ράζεται μεταξύ των AGO2 και AGO3. Πρόσφατα, τεκμηριώθηκε ότι το σύμπλεγμα AGO3-RISC έχει την πλήρη καταλυτική θέση και την παρουσία ατελούς καναλιού σύνδεσης νουκλεϊνικού οξέος που επιτρέπει στο AGO3 να έχει μια εκλεκτική δραστηριότητα διάσπασης με πιο περίπλοκες απαιτήσεις υποστρώματος (Park et al., 2017). Τελικά, τα AGO2 και AGO3 έχουν διαφορετικά βέλτιστα μήκη για διάσπαση στόχου. Επιπλέον, το AGO3 εκτός από τις καταλυτικές του ιδιότητες, έχει προταθεί να εμπλέκεται στη σταθεροποίηση των siRNAs από επεξεργασμένες επαναλαμβανόμενες RNA πολυμεράσες III επαναλήψεις Alu που περιέχουν ένα στοιχείο απόκρισης ρετινοϊκού οξέος DR2 (RARE) σε βλαστοκύτταρα (Hu et al., 2012).

Όσον αφορά τα μονοπάτια των miRNAs, οι AGOs των θηλαστικών μπορεί να έχουν αλληλεπικαλυπτόμενες λειτουργίες. Η απαλοιφή της θέσης (domain) δέσμησης DNA στους AGOs περιπλέκει την πυρηνική λειτουργία του AGO2. Ωστόσο, ο AGO2 φαίνεται να επιτυγχάνει γονιδιακή ρύθμιση μέσω του εντοπισμού ρυθμιστικών πρωτεϊνών (δηλαδή των ενζύμων που τροποποιούν τη χρωματίνη) σε συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιωματικού DNA (Li, 2014).

Ο ευέλικτος λειτουργικός ρόλος του AGO μπορεί να υπαγορεύεται, να επηρεάζεται ή να τροποποιείται από μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις. Τέτοιες τροποποιήσεις περιλαμβάνουν AGO2 SUMOylation (Small Ubiquitin-related Modifier protein" (SUMO), δηλαδή, προσθήκη περίπου 100 αμινοξέων) (Josa-Prado et al., 2015), ακετυλίωση (Zhang et al., 2019) και ουβικουϊτινίωση (Büterpage et al., 2015; Gibbings et al., 2012; Rybak et al., 2009). Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι η κατάσταση φωσφορυλίωσης του συμπλέγματος σερίνης/θρεονίνης είναι ζωτικής σημασίας για τις αλληλεπιδράσεις AGO2-mRNA που επηρεάζουν τη σύνδεση και τον εντοπισμό του mRNA. Αυτή η τροποποίηση, ειδικά η φωσφορυλίωση Ser387, Tyr529 και Tyr393, είναι απαραίτητη για τη γονιδιακή σίγαση in vivo (Meister, 2013; Quévillon Huberdeau et al., 2017). Έχει επίσης αναφερθεί ότι η μεταλλαγμένη προλίνη700 (P700) σε αλανίνη προκαλεί αποσταθεροποίηση AGO2. Τέλος, σε μια προσπάθεια μέτρησης της αποτελεσματικότητας της υδροξυλίωσης AGO in vitro, ο Qi και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι τα AGO2 και AGO4 φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικά υδροξυλιωμένες από τις AGO1 και AGO3 (Qi et al., 2008), αποδεικνύοντας διαφορικές ιδιότητες των μελών της AGO οικογένειας.

2.1. Καρκίνος

Ο Ιπποκράτης ήταν ο ονοματοδότης στην πάθηση του καρκίνου. Παρομοίασε τον όγκο στο στήθος με την εικόνα του καβουριού (καρκίνου) (εικ.12) που αγκαλιάζει το μαστό. Πολύ αργότερα, ο Valsalva, το 1704 υποστήριξε ότι αρχικά ο καρκίνος ήταν ένα τοπικό φαινόμενο που μπορούσε να αφαιρεθεί χειρουργικά, ενώ σε πιο προχωρημένο στάδιο ο καρκίνος μπορούσε μέσω των λεμφαγγείων να μεταφερθεί σε άλλα σημεία στο σώμα. Ο καρκίνος είναι μια πάθηση, η οποία μπορεί να προσβάλλει κάθε ιστό και όργανο του σώματος. Ο όρος αναφέρεται σε περίπου 150-200 διαφορετικές παθήσεις, ωστόσο έχουν 2 κοινά χαρακτηριστικά στοιχεία: την απεριόριστη αύξηση των κυττάρων και τις δυσλειτουργίες τις οποίες προξενεί. Ο Γαληνός σχετικά γράφει: «Οι καρκινωματώδεις όγκοι εν άπασι τοις μορίοις γίνονται. Μάλιστα δε τοις τιτθοίς (μαστοίς) των γυναικών» .



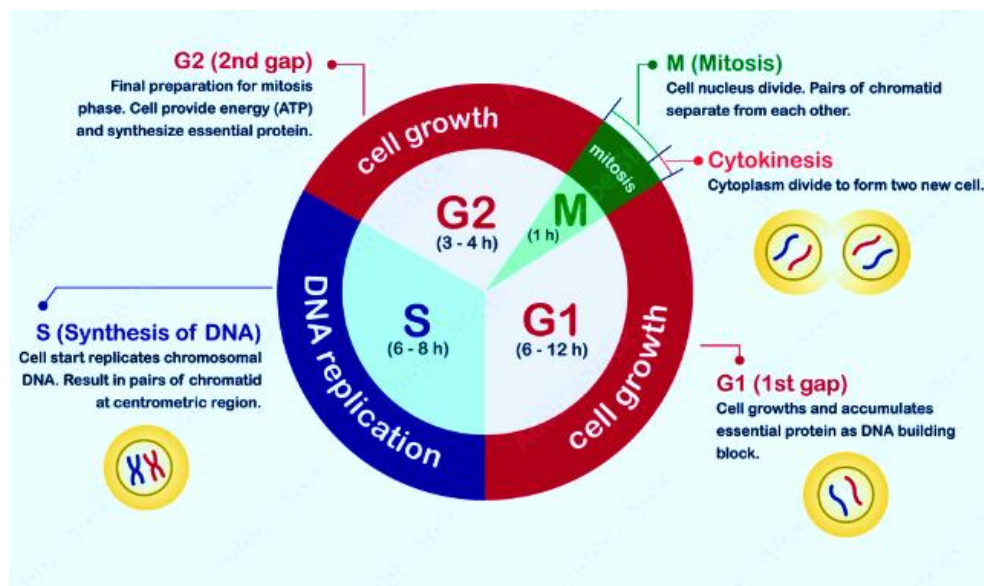
Εικόνα 12. Παράσταση από αμφορέα που απεικονίζει το καβούρι-καρκίνο. Πηγή: (<http://users.sch.gr/ipap/Ellinikos%20Politismos/AR/ar.ag/Diosphos-Painter13.htm>).

Ο καρκίνος αποτελούσε και αποτελεί μια ασθένεια του γήρατος. Παρόλα αυτά, λόγω της αύξησης του προσδόκιμου επιβίωσης και του καταγισμού που υφίσταται ο ανθρώπινος οργανισμός από διάφορους μεταλλαξογόνους παράγοντες γίνεται εμφανής και σε παραγωγικές ηλικίες. Απορίας άξιο είναι το γεγονός του ότι μια τόσο πολυπαραγοντική νόσος γεννάται τόσο συχνά στον πληθυσμό. Η συσσώρευση ωστόσο των μεταλλάξεων επισυμβαίνει όχι

ως διαδοχικά φαινόμενα - τυχαία τοποθετημένα - το ένα δίπλα στο άλλο αλλά και ως σωρεία επαγόμενων γεγονότων.

Ο όγκος είναι μια ανώμαλη μάζα που υπερβαίνει την ανάπτυξη των κανονικών ιστών, δεν συντονίζεται με αυτούς και εξακολουθεί να αυξάνεται κατά τον ίδιο πληθωρικό τρόπο και μετά την καταστολή του γενεσιουργού ερεθίσματος.

Ο καρκίνος έχει κάποια σημαντικά θεμελιώδη χαρακτηριστικά. Κατ' αρχήν, παρουσιάζει αυτονομία σε μηνύματα ανάπτυξης και δεν ανταποκρίνεται σε σήματα αναστολής. Παρουσιάζει διήθηση, μετάσταση και μία καλά συντηρούμενη αγγειογένεση. Επίσης, λόγω της αποφυγής της απόπτωσης δημιουργείται ένα απεριόριστο δυναμικό πολλαπλασιασμού και έτσι κάθε καρκινικός ιστός περιέχει κύτταρα σε διαφορετικά στάδια του κυτταρικού κύκλου αλλά και με διαφορετικό πολλαπλασιαστικό δυναμικό (εικ. 13).



Εικόνα 13. Παρουσίαση των διαφορετικών σταδίων του κυτταρικού κύκλου.

https://stock.adobe.com/gr_en/images/biology-diagram-show-infographic-of-cell-cycle-the-growth-dna-replication-and-mitosis-phase-of-cell-and-chromosome-in-nucleus/374112049

3.1. EMT στον καρκίνο

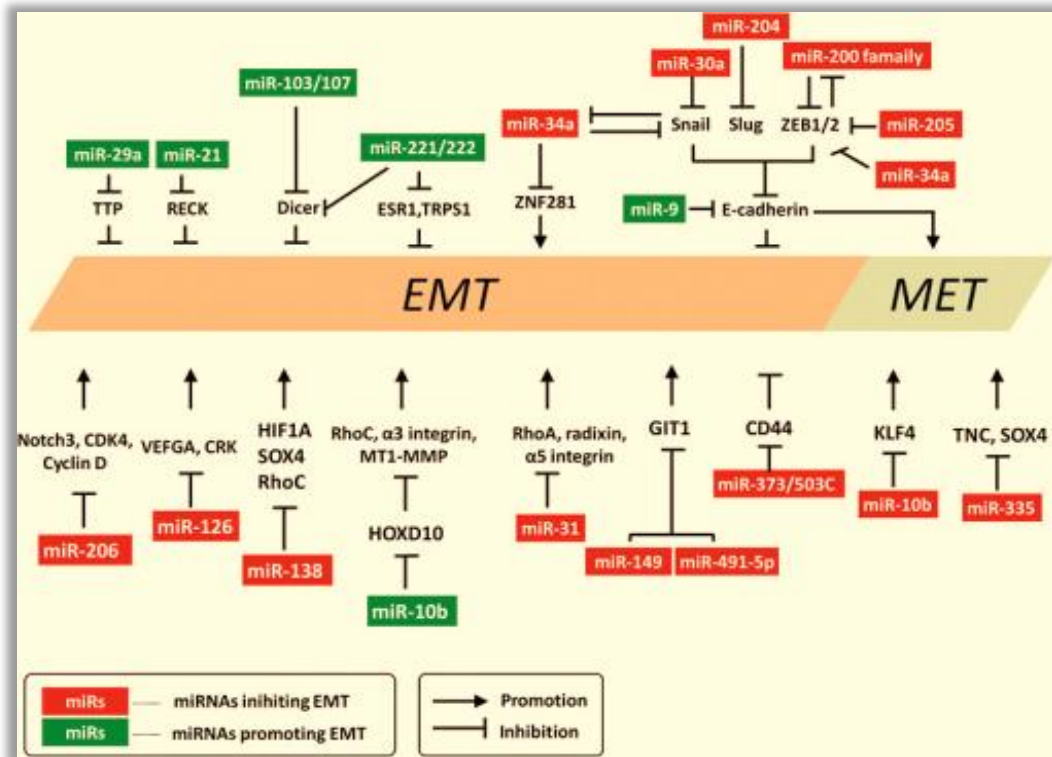
Η επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση ή μετατροπή (EMT) είναι μία αναστρέψιμη κυτταρική κατάσταση που μετατρέπει παροδικά τα επιθηλιακά κύτταρα σε μεσεγχυματικού τύπου (Nieto, 2009; Nieto et al., 2016; Thiery et al., 2009) και αποτελεί μια εξαιρετικά δυναμική διαδικασία. Κατά τη διάρκεια της εξέλιξής τους τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν το πλακώδες σαν πλακόστρωτο (“cobblestone”) επιθηλιακό τους σχήμα σε μονοστρωματικές καλλιέργειες

και υιοθετούν έναν ατρακτοειδή, μεσεγχυματικό φαινότυπο. Η EMT φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο σε συγκεκριμένα στάδια της φυσιολογικής εμβρυογένεσης, όπως στη γαστρίδωση (σχηματισμός 2-3 βλαστικών δερμάτων), μορφογένεση ιστών κατά στην ανάπτυξη και επούλωση τραυμάτων σε ενήλικες, καθώς και στην ίνωση οργάνων (Kalluri & Weinberg, 2009; Nieto, 2009; Thiery et al., 2009). Επιπλέον, η εμπλοκή του στην εξέλιξη του όγκου με μεταστατικό δυναμικό και η δημιουργία κυττάρων όγκου με ιδιότητες βλαστικών κυττάρων που οδηγούν σε αντίσταση στις θεραπευτικές προσεγγίσεις του καρκίνου έχουν περιγραφεί πρόσφατα από ερευνητές (Lambert et al., 2017; Nieto et al., 2016; Zhang & Weinberg, 2018).

Διαφορετικές καταστάσεις μετάβασης και έκφρασης επιθηλιακών και μεσεγχυματικών γονιδίων στα καρκινικά κύτταρα αποκαλύπτουν το γεγονός ότι η EMT διαδικασία μπορεί να είναι πλήρης ή μερική. Τα υβριδικά κύτταρα μπορούν να μεταναστεύσουν ομαδικά ως συμπλέγματα (αθροίσεις) και να παρουσιάσουν υψηλή επιθετικότητα (Jolly et al., 2015). Η διαδικασία EMT συνεπάγεται τη διαταραχή των διακυτταρικών συνδέσεων, αλλοιώσεις της κυτταρικής πολικότητας, κυτταροσκελετική αναδιαμόρφωση και αλλαγές στην μήτρα του κυττάρου. Στον καρκίνο, η EMT μπορεί να προκληθεί από υποξία, κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται από το μικροπεριβάλλον του όγκου, από τις ανταλλαγές μηνυμάτων του στρώματος, από μεταβολικές αλλαγές, από έμφυτες ή και προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις και τέλος από θεραπεία με αντικαρκινικά φάρμακα (Jolly et al., 2015). Η EMT παρουσιάζει αναστρέψιμες ιδιότητες από μεσεγχυματική σε επιθηλιακή μετάβαση (MET), επηρεάζοντας τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα να φτάσουν σε μια επιθυμητή μεταστατική θέση ώστε να αναπτύξουν δευτερογενείς όγκους.

Η EMT ελέγχεται από πολλαπλά miRNAs είτε από την επίδραση της έκφρασης των EMT μεταγραφικών παραγόντων είτε επηρεάζοντας τους σχετικούς συμπαράγοντες τους, όπως επιγενετικούς τροποποιητές ή σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης, συμπεριλαμβανομένων των SUZ12 (συστατικό PRC2), DNMTs και SACT deacetylase (Tam & Weinberg, 2013). Με τη σειρά τους, τα προαναφερθέντα μόρια ρυθμίζουν επιγενετικά την έκφραση των miRNAs με μείωση των κατασταλτικών χαρακτηριστικών ή διαδικασίες μεθυλίωσης του DNA. Τις περισσότερες φορές, η πλειοψηφία των miRNAs επιβάλλει τον επιθηλιακό φαινότυπο και περιορίζει την EMT μετάβαση με την άμεση μείωση της έκφρασης EMT-μεταγραφικών παραγόντων (εικ.14). Ανεξάρτητα από τα παραπάνω, υπάρχουν παραδείγματα miRNAs, όπως το miR-544a και το miR-21, που δρουν ως ισχυροί επαγωγείς της EMT στοχεύοντας σε δείκτες επιθηλιακής διαφοροποίησης (Liu et al., 2015; Yanaka et al., 2015). Τα τελευταία χρόνια,

προέκυψε μία βασική μοριακή «υπογραφή» των miRNAs κατά την επαγωγή EMT. Τα μέλη της οικογένειας miR-200 είναι βασικοί ρυθμιστές των κύριων συστατικών της μετάβασης EMT, ZEB1 και ZEB2, οι οποίοι διασφαλίζουν τη διατήρηση του επιθηλιακού φαινοτύπου (Park et al., 2008). Αντίστοιχα, το miR34 λειτουργεί ως θηλιά διπλής αρνητικής ανάδρασης μαζί με το SNAI1 (Siemens et al., 2011).



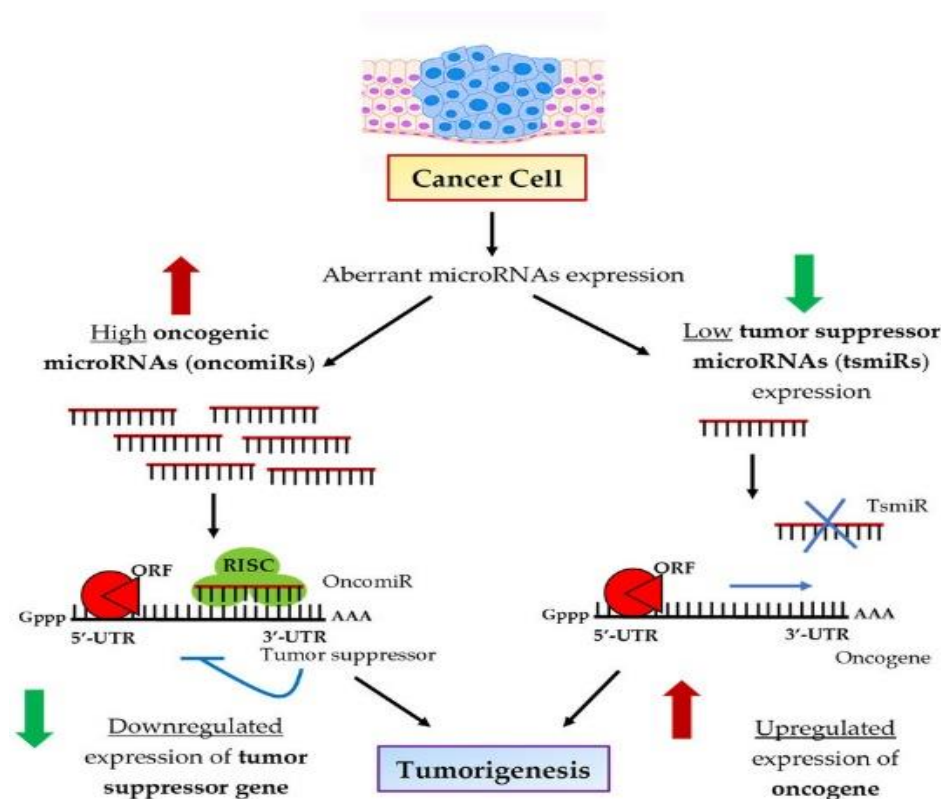
Εικόνα 14. Τα miRNAs που ρυθμίζουν EMT/MET διαδικασίες και οι στόχοι τους (Chan & Wang, 2015).

3.2. miRNAs ως βάση για τη θεραπεία του καρκίνου

Παρόλο που τα στοιχεία για τη θεραπεία του καρκίνου που βασίζεται σε miRNAs βρίσκονται ακόμη σε σχετικά αρχικά στάδια και οι μελέτες παραμένουν πιλοτικές, υπάρχει πρόσφορο έδαφος για τη βαθιά κατανόηση των λειτουργικών τους μηχανισμών.

Τα miRNAs ως ενδογενή μονόκλιωνα sncRNAs που έχουν μήκος 18–25 νουκλεοτίδια, έχουν την ιδιότητα να δεσμεύονται στις 3' αμετάφραστες περιοχές που στοχεύουν γονίδια που ρυθμίζουν κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού κύκλου, απόπτωσης, κυτταρικής ανάπτυξης, διαφοροποίησης και μεταβολισμού. Εκτεταμένα προφίλ μικροσυστοιχιών (microarrays) έχουν αποδείξει μια έντονη απορρύθμιση ως προς την έκφραση μιας ευρείας γκάμας miRNAs σε μια ποικιλία τύπων όγκων, δίνοντας έμφαση στη λειτουργική συνάφεια αυτών των sncRNAs στην ογκογένεση (Shah & Shah, 2020). Σήμερα, τα miRNAs είναι τα πλέον μελετημένα ncRNAs στον καρκίνο, με περισσότερες από 80.000 δημοσιεύσεις να έχουν καταγραφεί στο PubMed και περιλαμβάνουν miRNAs και καρκίνο.

Ένα μοναδικό miRNA έχει τη δυνατότητα να ρυθμίσει την έκφραση πολλαπλών γονιδίων και να επηρεάσει πολλαπλά βιολογικά συστήματα με συγκεκριμένο τρόπο. Τα miRNAs που σχετίζονται με τον καρκίνο γενικά ταξινομούνται σε μία από τις δύο υποκατηγορίες: ογκοκατασταλτικά miRNAs (ή «tumor suppressive miRs») και ογκογόνα miRNAs (ή «onco-miRs») (εικ. 15).



Εικόνα 15. Ρυθμιστικοί μηχανισμοί ογκογόνων και ογκοκατασταλτικών miRNAs σε ογκογόνα συμβάντα. Η αυξημένη έκφραση των ογκογόνων miRNAs σε καρκινικά κύτταρα αναστέλλει τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Η μειωμένη έκφραση των ογκοκατασταλτικών miRNAs ενισχύει δυναμικά την έκφραση των ογκογονιδίων. Κατά συνέπεια, τόσο τα ογκογόνα όσο και τα ογκοκατασταλτικά miRNAs οδηγούν στην ανάπτυξη όγκου διεγείροντας τον

πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την αντιαποπτωτική απόκριση, την αντιγραφική αθανασία, τη διήθηση, τη μετάσταση και την αγγειογένεση (Joshi, 2014).

Το εύλογο ερώτημα που προκύπτει είναι το κατά πόσον οι διακυμάνσεις στο προφίλ έκφρασης των miRNAs είναι το αίτιο ή το αποτέλεσμα για την πυροδότηση της καρκινογένεσης. Η πρώτη αναφορά συσχετισμού των miRNAs με τον καρκίνο έγινε το 2004 από τον Calin και τους συνεργάτες του (Calin et al., 2004) που υποστήριξαν ότι το προφίλ έκφρασης αυτών καθορίζει τη βιολογική και κλινική συμπεριφορά της κακοήθους χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας από Β-κύτταρα (chronic lymphocytic leukemia, CLL). Η ασθένεια αυτή έχει αιτία μια έλλειψη στη χρωμοσωμική περιοχή 13q14. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι η μικρή περιοχή της έλλειψης κωδικοποιεί δύο miRNAs, το miR-15a και το miR-16-1 (Croce, 2009). Ανάλυση της έκφρασής τους σε δείγματα CLL και φυσιολογικά CD5+ λεμφοκύτταρα αποκάλυψε ότι η υποέκφραση των δύο miRNAs που μοιράζονται ένα πρόδρομο μετάγραφο οφείλεται στην έλλειψη της περιοχής 13q14. Έτσι προτάθηκε ο ογκοκατασταλτικός ρόλος των miR-15a και miR-16-1. Μεταγενέστερα, εκτεταμένες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι τα miRNAs, miR-15a και miR-16-1 έχουν ογκοκατασταλτικό ρόλο και ελαττούμενης της έκφρασής τους ενισχύεται ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός (Aqeilan et al., 2010).

Άλλα παραδείγματα καλά χαρακτηρισμένων ογκοκατασταλτικών miRNAs περιλαμβάνουν τα miR-34a, miR-145 και την οικογένεια let-7. Πιο συγκεκριμένα, η οικογένεια miRNA-34 (miR-34), που περιλαμβάνει τα μέλη miR-34-a, b και c, τα οποία φαίνονται να είναι υποεκφρασμένα σε πολλούς καρκίνους αναλύονται ως ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα διαταραχής της έκφρασης των miRNAs.

Σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παγκρέατος ή του στομάχου με απαλοιφή του p53 παρατηρήθηκε παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 της μεσόφασης και τάση για απόπτωση. Η σχέση του p53 με αυτή την ομάδα των miRNAs τεκμηριώνεται σε κυτταρικές σειρές και ιστούς ποντικού, όπου το p53 ρυθμίζει την έκφραση και των τριών miRNAs της οικογένειας miRNA-34. Άμεσο επακόλουθο είναι η αναστολή της έκφρασης μίας ομάδας γονιδίων-στόχων που φυσιολογικά υποστηρίζουν την ανάπτυξη του όγκου μέσω αναστολής της απόπτωσης, της πρόοδου του κυτταρικού κύκλου, της αναστολής της κυτταρικής γήρανσης και της προώθησης της μετανάστευσης κυττάρων. Για να μπορέσει το κύτταρο να εισέλθει σε κατάσταση ηρεμίας, το p53 ενεργοποιεί ένα γονίδιο-αναστολέα των κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών, το p21. Παρά τη

δράση του p21, το miR-34 μπορεί να επάγει παύση του κύκλου στην G1 φάση ανεξάρτητα από το p21 σε ορισμένους κυτταρικούς τύπους (Ji et al., 2009; National-Cancer-Institute, 2018).

Στόχος του miR-34a είναι το mRNA ενός πολύ σημαντικού μεταγραφικού παράγοντα, του E2F3, ο οποίος προσδένεται ειδικά στην πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος, pRb. Αυτή η πρόσδεση εξαρτάται από το στάδιο του κυτταρικού κύκλου και προκαλεί την παραγωγή πρωτεϊνών που συντελούν καθοριστικά στα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, στην επιδιόρθωση του DNA και στην αντιγραφή. Όταν έγινε προσπάθεια να μειωθούν τα επίπεδα του E2F3 με τεχνητή αύξηση των επιπέδων του miR-34 σε πρωτογενή νευροβλαστώματα, αποδείχθηκε ότι παρεμποδίζεται ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και ενεργοποιούνται τα μονοπάτια του κυτταρικού θανάτου.

Επιπλέον, η οικογένεια miR-34 αναστέλλει την έκφραση των γονιδίων *notch*, *hmg2*, *cdk4*, *cdk6*, *cyclin E2* και *bcl-2*, τα οποία εμπλέκονται στην αυτοανανέωση και την επιβίωση των καρκινικών βλαστοκυττάρων μέσω ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, της απόπτωσης και της επιδιόρθωσης. Παράδειγμα αποτελεί το *bcl2*, υπερεκφρασμένο σε ένα πολύ μεγάλο ποσοστό των καρκίνων, το οποίο συσχετίζεται με την ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία και στην ακτινοβολία, αφού το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μία αντιαποπτωτική πρωτεΐνη που είναι ασπίδα προστασίας από χημειοθεραπευτικά φάρμακα (Zimmerman & Wu, 2011). Η αποκατάσταση των φυσιολογικών επιπέδων των miR-34 σε καρκίνους του παγκρέατος και του γαστρεντερικού σωλήνα καθιστά τα κύτταρα ευάλωτα στη χημειοθεραπεία. Συνεπώς, καταστέλλεται η ανάπτυξη του όγκου. Παρ' όλα αυτά, η λειτουργία της καταστολής του όγκου μέσω της τεχνητής αύξησης των επιπέδων των miR-34 είναι εξαρτώμενη από τον κυτταρικό τύπο (Misso et al., 2014).

Χαρακτηρισμένα ως onco-miRNAs φαίνεται να είναι τα miR-21 και miR-155. Είναι ενδιαφέρον ότι αρκετά miRNAs φαίνεται να έχουν διττή λειτουργικότητα, ενεργώντας τόσο ως καταστολείς του όγκου όσο και ως ογκογόνα.

Εκτός από τα miRNAs που έχουν αμιγώς ογκοκατασταλτική ή ογκογόνα δράση, υπάρχουν και τα αμφιλεγόμενα miRNAs των οποίων η δράση έχει συσχετιστεί είτε με το είδος είτε με το στάδιο του όγκου. Για παράδειγμα, αν και το miR-200c αναστέλλει την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) και εμποδίζει την έναρξη του καρκίνου και της μετάστασης, είναι συχνά υπερεκφρασμένο σε καρκίνους τελικού σταδίου και εμπλέκεται στην προώθηση απομακρυσμένων μεταστάσεων (Korpal et al., 2011; Pecot et al., 2013; Toyama et al., 2014).

Επομένως, το miR-200c φαίνεται να έχει τόσο ογκοκατασταλτική όσο και ογκογόνα δράση, οι οποίες είναι τοπικά και χρονικά εξαρτώμενες. Επιπροσθέτως, η ογκοκατασταλτική ή ο-

γχογόνα φύση τους εκδηλώνεται με τρόπο που να εξαρτάται από το περιβάλλον και σχετίζονται με συγκεκριμένα στάδια καρκινογένεσης (Toden et al., 2021) ή με διάφορους τύπους ιστών ή καρκίνων (Πίνακας 1). Αυτό τονίζει την επιτακτική ανάγκη για συνεχή έρευνα για την καλύτερη κατανόηση του ρόλου των ncRNAs στον καρκίνο, ταυτοποίηση των μονοπατιών σηματοδότησης και τους εξειδικευμένους γενετικούς στόχους, καθώς όλα αυτά θα είναι καθοριστικής σημασίας για την καλύτερη υλοποίηση του θεραπευτικού δυναμικού τους.

Πίνακας 1. Υποέκφραση και υπερέκφραση πολλών miRNAs μεταξύ καρκινικών ιστών σε διάφορους τύπους νεοπλασμάτων (Lee et al, 2009)

Είδος καρκίνου	MicroRNA	Αυξορρύθμιση	Μειορρύθμιση
Καρκίνος του μαστού	miR-21	↑	
	miR-125b, miR-145		↓
Καρκίνος του προστάτη	let-7e, miR125b, miR-145		↓
Καρκίνος του παγκρέατος	miR-21, -221, -222, -181a, -181b, -181d, -155, -196a, let-7i, -100, -301, -212, -376a	↑	
	miR-217		↓
Καρκίνος του πνεύμονα	miR-21, -205	↑	
	miR-126		↓
Καρκίνος των ωοθηκών	miR-200a, -141	↑	
	miR-199a, -140, -145, -125b		↓
Λειομύωμα	let-7, miR-21, -23b	↑	
Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	miR-21, -221, -224, -18	↑	
	let-7a, miR-122, miR-199a, -200a		↓
Καρκίνος του θυρεοειδούς	miR-197, -346, -221, -222, -181b, -146b	↑	
	miR-30d, -125b, -26a, -30a-5p		↓
Καρκίνος του παχέος εντέρου	miR-25, -92, -31, -96, -135b, -183	↑	
	miR-133b, -145		↓
Αδένωμα της υπόφυσης	miR-26a, -149	↑	
	miR-21, -141, -144		↓
Γλοιοβλάστωμα	miR-221, -10b	↑	
	miR-128, -181a, b		↓
Λευχαιμία	miR-21, -150, -155	↑	
	miR-92, -222		↓

3.3. miRNAs ως διαγνωστικοί δείκτες και ως θεραπευτικά μόρια στον καρκίνο

Η χρήση των miRNAs στην κλινική διάγνωση του καρκίνου έχει επιταχυνθεί από την περιγραφή συγκεκριμένων προφίλ που διακρίνουν συγκεκριμένους τύπους/υποτύπους καρκίνου. Αρκετές δοκιμές που χρησιμοποιούν προφίλ έκφρασης των miRNAs για ταξινόμηση διαφόρων καρκίνων έχουν αναπτυχθεί για κλινική χρήση, ενώ διάφορες εταιρείες ερευνούν panels με miRNAs για την αναγνώριση πρωτογενούς προέλευσης μεταστατικών καρκίνων χρησιμοποιώντας τα ως βιοδείκτες.

Όλες οι αναλύσεις αυτών των δοκιμών βασίζονται σε βιοψίες όγκων, που απαιτούν επεμβατική εξέταση και δεν ανταποκρίνονται σε κλινικούς βιοδείκτες που επιτρέπουν επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, εκτεταμένες έρευνες την τελευταία δεκαετία εστίασαν στην ανάπτυξη μη επεμβατικών δοκιμών, όπως «υγρές βιοψίες» για προγνωστική, διαγνωστική, και θεραπευτική δοκιμή. Οι υποψήφιοι miRNAs-βιοδείκτες με βάση αναλύσεις αίματος για την υγρή βιοψία, είναι χρήσιμοι τόσο για την ανίχνευση καρκίνου, όσο και για την παρακολούθηση της δυναμικής εξάπλωσης του όγκου, την πρόβλεψη κακοήθους δυναμικού, πρόγνωσης και αντίστασης στη χημειοθεραπεία σε καρκινοπαθείς (Morimura et al., 2011; Tsujiura et al., 2010; Tsujiura et al., 2015).

Αυτή η εξέλιξη είναι παρόμοια με την ερευνητική προσπάθεια για την ανάλυση των μεταλλάξεων που υπάρχουν σε χαμηλές αναλογίες στο βιολογικό υλικό. Αυτές έχουν πρόσφατα προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον για τον εντοπισμό κλινικά σχετικών υποπληθυσμών (ύπαρξη κλωνικότητας) ή για την παρακολούθηση, την ανταπόκριση και πιθανή εμφάνιση μεταλλάξεων που προσφέρουν αντίσταση στη θεραπεία. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις που πρέπει να ακολουθηθούν χρειάζονται να προσαρμοστούν σε κάθε μεμονωμένο ασθενή και στους νέους υποκλώνους που μπορεί να διαφύγουν τον εντοπισμό. Τα miRNAs με το μικρό τους μέγεθος και τις συμβατικές μεθόδους ανίχνευσης που βασίζονται σε qPCR θα μπορούσαν να παρουσιάσουν ένα εναλλακτικό εργαλείο για διαχείριση των ασθενών με μη επεμβατικό τρόπο.

Τα miRNAs εκτός από πολλά υποσχόμενοι διαγνωστικοί δείκτες έχουν αποτελέσει αρχή θεραπευτικών προσεγγίσεων. Οι μιμητικές αλληλουχίες των miRNAs δεν έχουν τις παρενέργειες μιας φαρμακευτικής αγωγής, χρειάζονται όμως εκτεταμένη διερεύνηση πριν μια θεραπεία που μιμείται miRNA χρησιμοποιηθεί σε κλινική δοκιμή.

Έχει ήδη αναφερθεί ότι μία κλινική δοκιμή φάσης I διερεύνησε θεραπεία βασισμένη σε miRNAs σε ασθενείς με κακοήθη μεσοθελίωμα του υπεζωκότα. Η θεραπεία με TargomiRs, μι-

μείται miRNA με νέα αλληλουχία «πακεταρισμένη» σε μικροβιακά βακτήρια στοχευμένα με αντισώματα anti-EGFR, αποκαλύπτοντας σαφή σημάδια κλινικής δραστηριότητας (Winata et al., 2017). Υπάρχουν επίσης προσπάθειες για θεραπείες που βασίζονται σε AntagomiRs, δηλαδή, σε συνθετικούς ανταγωνιστές των miRNAs. Πρόσφατα, το RG-101 είναι ένα R-antagomiR συζευγμένο με N-ακετυλ-Δ-γαλακτοζαμίνη που στοχεύει επίσης το miR-122 σε ηπατοκύτταρα μολυσμένα με HCV (Baek et al., 2014). Ωστόσο, τα κλινικά αποτελέσματα για τα AntagomiRs είναι επισφαλή λόγω της περιορισμένης εξειδίκευσης στη στόχευση των miRNAs που έχουν μεγάλη ομοιότητα με τις αλληλουχίες τους. Σε κάθε περίπτωση, δεδομένου ότι τα miRNAs είναι ενδογενείς παράγοντες, αυτές οι εφαρμογές απεικονίζουν τη χρησιμότητα και την ευελιξία των συνθετικών αντιγράφων αλληλουχιών ως μοριακών εργαλείων με ελάχιστες παρενέργειες στη βιοϊατρική έρευνα.

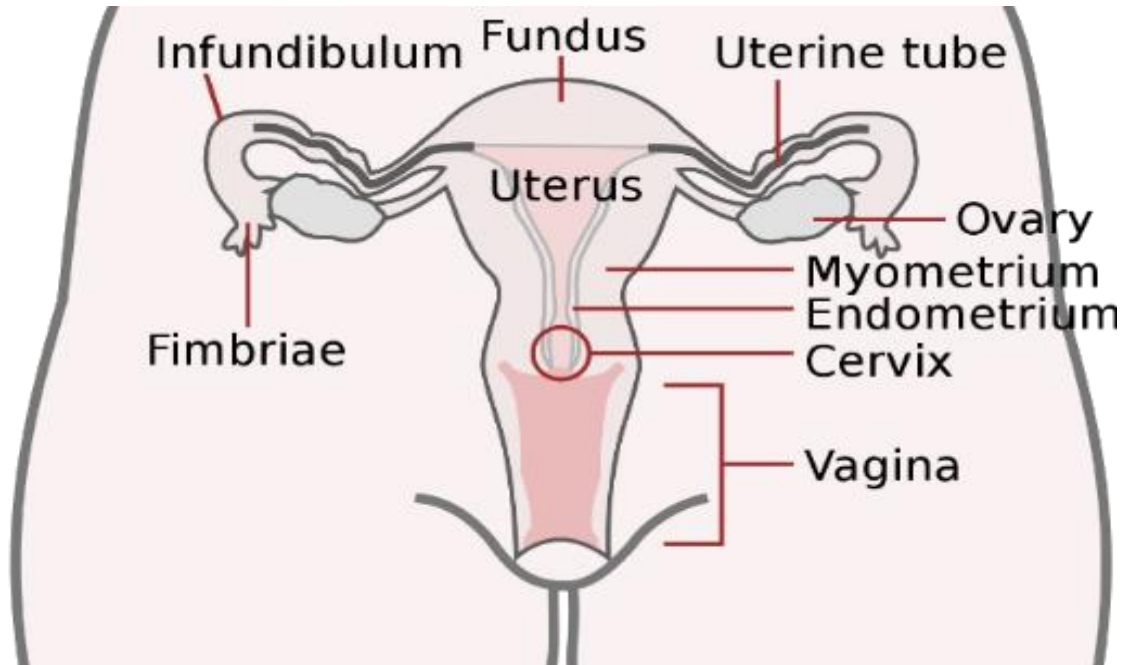
Πρόλογος για τα miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου

4.1. miRNAs στο ενδομήτριο

Η μήτρα (uterus), είναι ένα απαραίτητο γυναικείο όργανο για την επιτυχή αναπαραγωγή. Η σωστή ανάπτυξη και λειτουργία της μήτρας εξαρτάται από τις σωστές αλληλεπιδράσεις ενός πολύπλοκου συστήματος που περιλαμβάνει γονιδιακή μεταγραφή, μετα-μεταγραφική ρύθμιση και μετάφραση πρωτεϊνών. Έχει αποδειχτεί ότι τα μη κωδικοποιητικά RNAs (ncRNAs), και συγκεκριμένα τα μικρά RNAs (miRNAs), έχουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη του ενδομητρίου, η έκφραση και η ρύθμιση των οποίων έχει μεγάλη σημασία για τις παθολογικές καταστάσεις και τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Η μήτρα, ως γνωστόν, αποτελείται από τρία στρώματα ιστού, το ενδομήτριο, το μυομήτριο και το περιμήτριο (εικ.16). Το ενδομήτριο είναι το εσωτερικό στρώμα ή η επένδυση της κοιλότητας της μήτρας. Το ενδομήτριο ανταποκρίνεται στις ορμόνες και, ως απάντηση στη διαδοχική δράση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, παρέχει το απαραίτητο περιβάλλον για την προσκόλληση του εμβρύου και την εγκαθίδρυση της εγκυμοσύνης. Το πάχος και η συστατικότητα του θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση της φυσιολογικής και μη φυσιολογικής λειτουργίας της μήτρας, τα πρώιμα στάδια της εγκυμοσύνης και την έγκαιρη ανίχνευση του ενδεχόμενου καρκίνου του ενδομητρίου (Tanos et al., 2020).

Το μυομήτριο είναι το μυϊκό στρώμα, το οποίο χωρίζει το ενδομήτριο από το εξωτερικό, το περιμήτριο. Ενώ το μυομήτριο παραμένει σχετικά ήρεμο κατά τη διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου, η κύρια λειτουργία του μυομητρίου είναι να παρέχει τη συσταλτική δύναμη που είναι απαραίτητη για την αποβολή του εμβρύου κατά τον τοκετό.



Εικόνα 16. Μήτρα και σωληνάκια της μήτρας (το ενδομήτριο επισημαίνεται στο κέντρο δεξιά).(<https://en.wikipedia.org/wiki/Endometrium>)

Χρησιμοποιώντας ζωικά μοντέλα, τα οποία έχουν εξαντληθεί γενετικά από συγκεκριμένα συστατικά της βιογένεσης των small RNA/miRNAs, έχει αποδειχθεί σαφώς ότι αυτή η κατηγορία ncRNAs είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία της μήτρας. Το DICER (DICER1 σε ποντίκια), RNase III διασπά τα pre-miRNAs σε ώριμα miRNAs, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δύο κλώνων RNA (Bartel, 2004). Ο Nagaraja και οι συνεργάτες του, το 2008, (Nagaraja et al., 2008) απέδειξαν ότι τα θηλυκά ποντίκια στα οποία το Dicer1 απενεργοποιήθηκε στους ιστούς της αναπαραγωγικής οδού που προέρχονται από μεσέγχυμα του αγωγού Müller ήταν υπογόνιμα και εμφάνισαν μειωμένα ποσοστά ωορρηξίας, μεταβαλλόμενη ακεραιότητα ωαρίων/εμβρύων, ωοειδείς κύστες και βραχύτερη μήτρα. Ομοίως, ο Hong και οι συνεργάτες του (Hong et al., 2008) παρατήρησαν παρόμοιες αλλοιώσεις του ωοθηκικού ιστού, της ωορρηξίας και της μήτρας, αλλά καμία σημαντική επίδραση της διαγραφής του Dicer1 στην ανάπτυξη του εμβρύου in vitro. Ωστόσο, τα έμβρυα που συλλέχθηκαν από την 3η ημέρα της εγκυμοσύνης, in vivo, καθυστέρησαν αναπτυξιακά σε ποντίκια με έλλειψη Dicer1 σε σύγκριση με αντίστοιχα άγριου τύπου. Οι Gonzalez και Behringer (Hong et al., 2008) παρατήρησαν επίσης

παρόμοιες αλλοιώσεις εντός της ωοθήκης, εκφυλισμένα/μη γονιμοποιημένα ωκύτταρα μέσα στις ωοειδείς κύστες και αδυναμία επίτευξης εγκυμοσύνης. Περαιτέρω ιστολογική ανάλυση έδειξε ότι μήτρα με έλλειψη *Dicer1* περιείχε λιγότερο αδενικό ιστό και εμφάνιζε αδενομύωση πρώιμου σταδίου ή ανάπτυξη ενδομητρικών αδένων μέσα στο στρώμα του μυομητρικού ιστού. Επομένως, η υπογονιμότητα και οι ανωμαλίες της αναπαραγωγικής οδού που χαρακτηρίζουν τα θηλυκά ποντίκια με έλλειψη *Dicer1* υποδηλώνουν έντονα ότι η λειτουργία *DICER1* και η μετα-μεταγραφική γονιδιακή ρύθμιση με τη μεσολάβηση του miRNA είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού.

Όσον αφορά τον ρόλο των miRNAs στον ιστό της μήτρας, οι πρώτες αναφορές ανευρίσκονται στους τομείς της ενδομητρίωσης (Bjorkman & Taylor, 2019; Moga et al., 2019) και των ινομυωμάτων/λειομυωμάτων της μήτρας (Wang et al., 2007), ενώ η πλειοψηφία των ερευνών επικεντρώθηκε στο ρόλο των miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου.

4.2. Έκφραση και λειτουργία των miRNAs στο ενδομήτριο

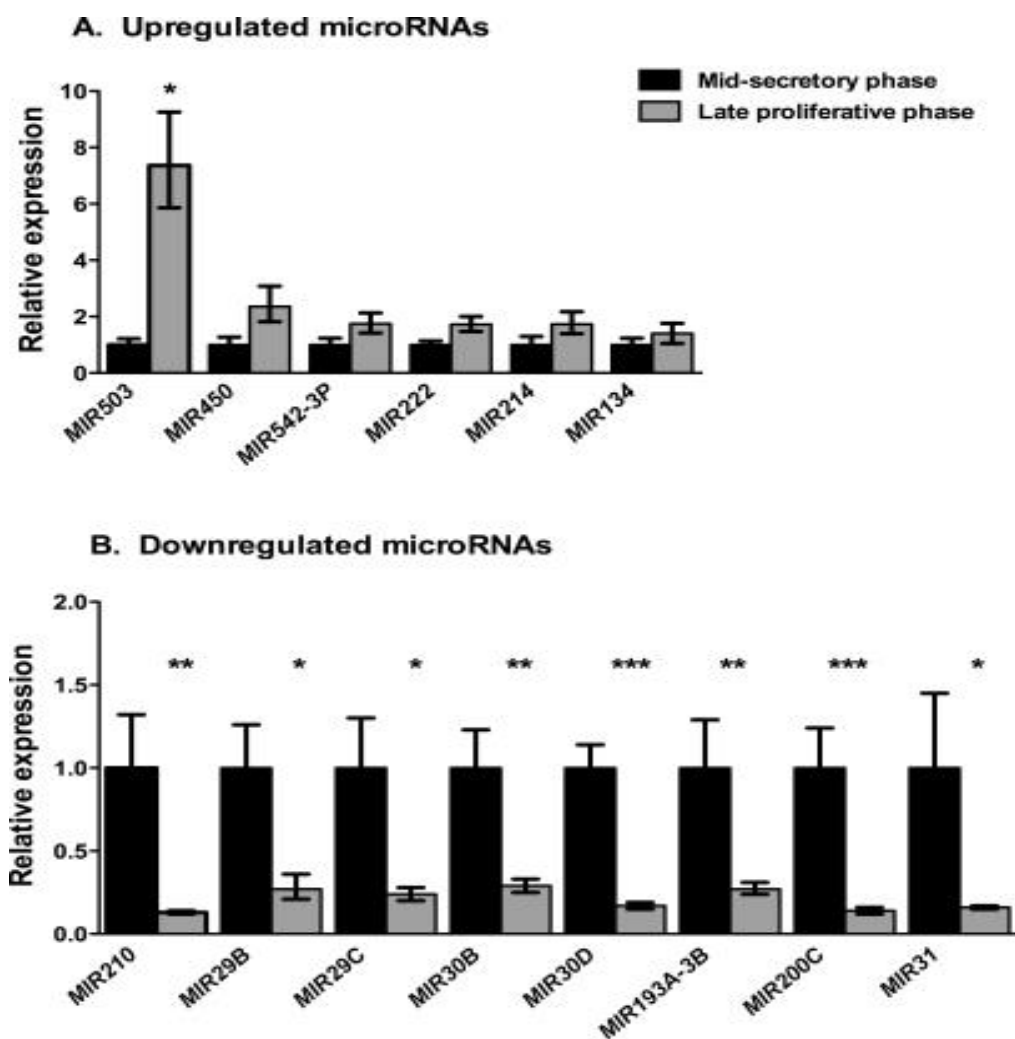
Το ενδομήτριο είναι το εσωτερικό στρώμα της μήτρας και λειτουργεί για να παρέχει ένα κατάλληλο περιβάλλον για την εγκυμοσύνη (εμφύτευση εμβρύου) ως απάντηση στα μεταβαλλόμενα επίπεδα στεροειδών ορμονών (οιστρογόνων/προγεστερόνης) που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού αναπαραγωγικού κύκλου. Εξήντα πέντε miRNAs ανιχνεύθηκαν στον ενδομητρικό ιστό. Στο φυσιολογικό ενδομήτριο γυναικών (γυναίκες χωρίς ενδομητρίωση) στη μελέτη του Nothnick, τα miR-125b, miR-21, miR-145, miR-26a, miR-23b, miR-29a και miR-99a miRNAs, είχαν αύξηση της έκφρασής τους (υπερέκφραση)(Nothnick, 2016). Σε έκτοπη εμφύτευση (σαλπινγική/ωοθηκική) και σε ενδομήτριο από γυναίκες με ενδομητρίωση, υπήρξε σημαντική μείωση στην έκφραση όλων αυτών των miRNAs καθώς και αρκετών άλλων miRNAs, με το miR-451 να είναι ένα από τα πιο μειωμένα miRNA στους ιστούς από γυναίκες με ενδομητρίωση. Η έκφραση των miRNAs στο φυσιολογικό ενδομήτριο αναλύθηκε σε miRNAs εκφρασμένα από ενδομητρικά στρωματικά κύτταρα και αδενικά επιθηλιακά κύτταρα. Τριάντα δύο miRNAs αποδείχθηκε ότι εκφράζονται διαφορετικά μεταξύ διαφορετικών κυτταρικών τύπων, ενώ η έκφραση των miR-20a, miR-21 και miR-26a, ρυθμίζεται από τις στεροειδείς ορμόνες της γυναίκας.

4.3. Ρύθμιση των miRNAs του ενδομητρίου από Οιστρογόνα και Προγεστερόνη

Η ρύθμιση της δράσης του miRNAs από ορμόνες του φύλου συνδέεται πιθανώς με τη λειτουργία των πρωτεϊνών Dicer και AGOs, των οποίων η σημαντικότητα στη λεπτή ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αναλύθηκε εκτεταμένα σε προηγούμενη ενότητα (Klinge, 2012). Η επίδραση των στεροειδών ορμονών στην έκφραση των miRNAs έχει μελετηθεί εκτενώς σε ζωικά μοντέλα. Ωστόσο, μελέτες σε zebrafish έδειξαν ότι η οιστρογόνο-ρυθμιζόμενη έκφραση των miRNAs είναι εξαρτώμενη από τον κυτταρικό τύπο και τον ιστό (Cohen et al., 2008). Έτσι, ευρήματα ορμονικής ρύθμισης miRNAs σε έναν ιστό δεν μπορούν κατ' ανάγκη να γενικευτούν σε άλλα είδη ή ιστούς.

Έκθεση σε οιστραδιόλη σε ανθρώπινα ενδομήτρια στρωματικά κύτταρα, σε *in vitro* επαγόμενη καλλιέργεια, επάγει αυξορρύθμιση (αύξηση της κυτταρικής δραστηριότητας, της παραγωγής πρωτεϊνών και της μεταγραφής RNA) των miR-181b και let-7e, και μειορρύθμιση (ελάττωση της κυτταρικής δραστηριότητας, της παραγωγής πρωτεϊνών και της μεταγραφής RNA) του mi-R27b (Reed et al., 2018). Ομοίως, επαγωγή έκφρασης miR-125b και miR-133a παρατηρήθηκε σε *in vitro* καλλιέργεια από ανθρώπινα ενδομητρικά επιθηλιακά κύτταρα εκτεθειμένα σε προγεστερόνη (Chen et al., 2016; Pan et al., 2017). Η επαγωγή της έκφρασης του miR-133a είχε ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των ενδομητρικών επιθηλιακών κυττάρων (Pan et al., 2017). *In vivo*, η ενδομητρική έκφραση των miR-30b, miR-125b, miR-424 και miR-451 βρέθηκε να είναι χαμηλότερη σε γυναίκες με υψηλά επίπεδα προγεστερόνης στο αίμα, σε σύγκριση με γυναίκες με χαμηλά επίπεδα προγεστερόνης στο αίμα, τη στιγμή της ωορρηξίας κατά τη διάρκεια ελεγχόμενης υπερδιέγερσης των ωοθηκών σε διαδικασία εξωσωματικής (*in vitro*) γονιμοποίησης (Li et al., 2011).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ο Kuokkanen και οι συνεργάτες του εντόπισαν 49 miRNAs που διαφοροποιήθηκαν στα επιθηλιακά κύτταρα στη μέση εκκριτική φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου σε σύγκριση με την όψιμη αναπαραγωγική φάση (Kuokkanen et al., 2010). Μεταξύ των αυξορυθμισμένων miRNAs στη μέση εκκριτική φάση (σε σύγκριση με την όψιμη αναπαραγωγική φάση), τα miR-29b, miR-29c, miR-30b, miR-30d, miR-31, miR-193a-3p, miR-200c, miR-203, miR-204, miR-210, miR-345 και miR-582-5p έδειξαν τη μεγαλύτερη διαφορετική έκφραση (εικ 17). Αντιστρόφως, τα μεγαλύτερα επίπεδα διαφορετικής έκφρασης μεταξύ των μειορρυθμισμένων miRNAs στην όψιμη εκκριτική φάση, βρέθηκαν για τα miR-105, miR-127, miR-134, miR-214, miR-222, miR-369-5p, miR-370, miR-376a, miR-382, miR450, miR-503 και miR-542-3p.



Εικόνα 17. Έκφραση επιλεγμένων αυξορυθμιζόμενων (A) και μειορυθμιζόμενων (B) miRNAs στα δείγματα ενδομητρίου όψιμης αναπαραγωγικής φάσης εμμηνορρυσιακού κύκλου σε σχέση με τα δείγματα ενδομητρίου μέσης εκκριτικής φάσης με ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο (*real time qPCR*). Η σχετική γονιδιακή έκφραση των δειγμάτων όψιμης αναπαραγωγικής φάσης έναντι δειγμάτων μέσης εκκριτικής φάσης αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (μέθοδος ανάλυσης σχετικών μεταβολών στην έκφραση των γονιδίων με τη χρήση της *real time qPCR*). Τα δεδομένα που εμφανίζονται υποδεικνύουν τη σχετική έκφραση των δειγμάτων όψιμης αναπαραγωγικής φάσης (γκρίζα γραμμή) σε σχέση με τα δείγματα της μέσης εκκριτικής φάσης (μαύρες ράβδοι). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ και *** $P < 0,001$ (Kuokkanen et al., 2010).

Παράλληλα, στην ίδια μελέτη, η μεταγραφική ανάλυση των δειγμάτων επιβεβαίωσε μια μειωμένη ρύθμιση 19 miRNAs στη μέση εκκριτική φάση που προβλέπεται ότι θα ελέγχεται από το εκάστοτε προσδιορισμένο miRNA. Συμπερασματικά, η προηγηθείσα της εκκριτικής φάσης και ελεγχόμενη από τα οιστρογόνα αναπαραγωγική φάση, στο προφίλ των miRNAs χαρακτηρίζεται από την αναστολή των ογκοκατασταλτικών miRNAs και την επαγωγή των ογκογόνων miRNAs (Cochrane et al., 2011).

4.4. Δράση των miRNAs στους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης

Στο ανθρώπινο ενδομήτριο, η δράση των οιστρογόνων ρυθμίζεται με τροποποιήσεις στην έκφραση των πυρηνικών υποδοχέων ERα (expression of nuclear estrogen) και ERβ. Η δράση της προγεστερόνης εξαρτάται από τη σχετική έκφραση των ισομορφών του υποδοχέα PR-A και PR-B. (progesterone receptors)

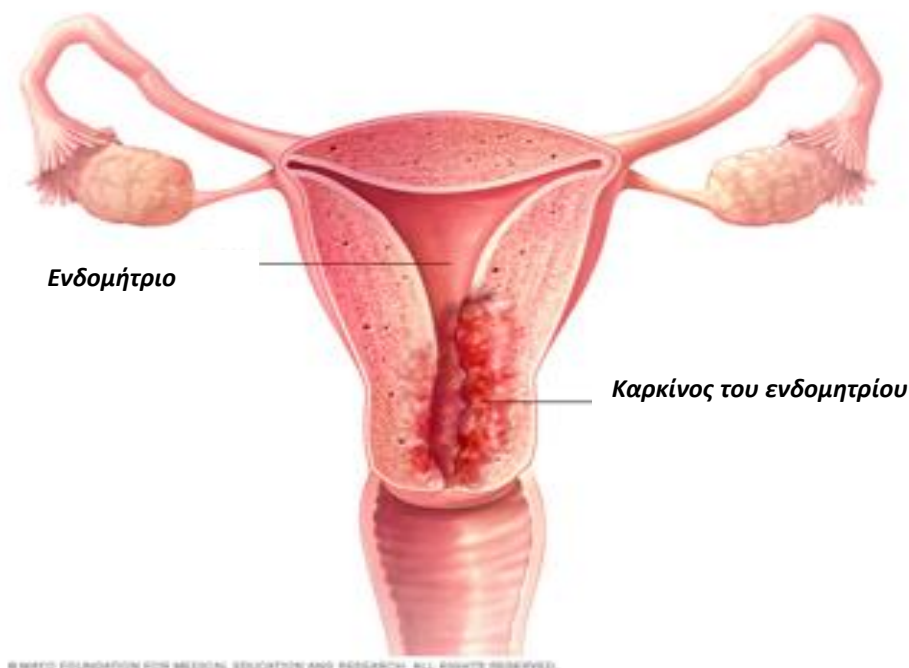
Λίγα είναι γνωστά για τη ρύθμιση που έχουν τα miRNAs στον υποδοχέα των οιστρογόνων (ER) στο ενδομήτριο. Ο Bao και η ομάδα του απέδειξαν ότι ο υποδοχέας των οιστρογόνων α (ERα) ήταν ο άμεσος στόχος των miR-107-5p. miR-107-5p που μείωσαν την έκφραση του ERα τόσο στο επίπεδο του mRNA όσο και της πρωτεΐνης. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι το miR-107-5p είναι ένας προγνωστικός παράγων που στοχεύει τον ERα να προάγει την ανάπτυξη του όγκου και τη διήθηση του μυομητρίου από τον ενδομητρικό καρκίνο (EC). Αντίθετα, η επίδραση στην ίδια κυτταρική σειρά (επιθηλιακά ή στρωματικά κύτταρα) αναστολέα του miR-107 είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση του ERα και στα δύο επίπεδα (Bao et al., 2019). Ο Χiao και οι συνεργάτες του πρόσφατα έδειξαν την επίδραση του miR-22-5p στο ERβ στα ενδομητρία στρωματικά κύτταρα που απομονώθηκαν από το ενδομήτριο γυναικών με ήπια/σοβαρή ενδομητρίωση. Η έρευνά τους υπέδειξε ότι μια ανισορροπία στην έκφραση του miR22-5p στη μέση-εκκριτική φάση (ωχρινική) του ενδομητρίου οδήγησε σε τροποποιήσεις της έκφρασης του ERβ στα ωχρινοποιημένα στρωματικά κύτταρα και πιθανώς να έχει σχέση με τη στειρότητα σε έδαφος μικρού βαθμού ενδομητρίωσης. (Xiao et al., 2020).

Η έκφραση του PR φαίνεται να ρυθμίζεται από το miR-194-3p, καθώς η επίδρασή του στα ενδομητρικά στρωματικά κύτταρα *in vitro* είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης PR-A και PR-B (Pei et al., 2018). Σύμφωνα με αυτό το εύρημα, η υπερέκφραση του miR-194-3p συσχετίστηκε με την αναστολή της καταστροφής (απόπτωσης) των ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων (Pei et al., 2018). Ο ίδιος ρόλος έχει περιγραφεί και για το miR-196a, καθώς η επίδρασή του επί των ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων *in vitro*, είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών PR-A και PR-B (Zhou et al., 2016).

Σε *in vitro* μελέτες, το miR-92a προώθησε τον πολλαπλασιασμό των στρωματικών κυτταρικών σειρών του ενδομητρίου. Η επίδραση επί αυτής της κυτταρικής σειράς με miR-92a είχε ως αποτέλεσμα την αντίσταση στην προγεστερόνη (Li et al., 2020). Η ανάλυση της δράσης του miRNA έδειξε ότι οι PR είναι οι προβλεπόμενοι στόχοι των miR-196a, miR-297, miR-575, miR-628-3p, miR-635, miR-921, miR-938 και miR-1184 (Li et al., 2020).

5. Καρκίνος του ενδομητρίου

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο δεύτερος πιο συχνός καρκίνος μεταξύ των κακοήθων καρκίνων των γυναικείων γεννητικών οργάνων και ο 4^{ος} συχνότερος καρκίνος σε γυναίκες δυτικού κόσμου (μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες). Περίπου το 80 % των περιπτώσεων έχουν ιστολογικό τύπο ενδομητριοειδούς αδενοκαρκινώματος (Amant et al., 2005; Yanokura et al., 2015). Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ένας τύπος καρκίνου που ξεκινά στη μήτρα. Η μήτρα αποτελεί το κοίλο, πυελικό όργανο σε σχήμα αχλαδιού όπου συμβαίνει η εμβρυϊκή ανάπτυξη. Ο καρκίνος του ενδομητρίου ξεκινά στο στρώμα των κυττάρων που σχηματίζουν το βλεννογόνο (ενδομήτριο) της μήτρας και ονομάζεται καρκίνος ενδομητρίου (εικ.18).



Εικόνα 18. Ο καρκίνος του ενδομητρίου ξεκινά στον έσω χιτώνα της μήτρας (ενδομήτριο).

Πηγή: (<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/symptoms-causes/syc-20352461>)

Άλλοι τύποι καρκίνου που μπορούν να σχηματιστούν στη μήτρα, συμπεριλαμβάνουν το σάρκωμα της μήτρας, αλλά είναι πολύ λιγότερο συχνές παθήσεις σε σχέση με τον καρκίνο του ενδομητρίου (<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/symptoms-causes/syc-20352461>).

Κάθε χρόνο, ο καρκίνος του ενδομητρίου αναπτύσσεται σε περίπου 142.000 γυναίκες παγκοσμίως και εκτιμάται ότι 42.000 γυναίκες πεθαίνουν από αυτόν τον καρκίνο με τις μητροπραγίες να οδηγούν την γυναίκα συνηθέστερα στο γυναικολόγο. Στο 20% των περιπτώσεων η διάγνωση γίνεται σε προχωρημένο στάδιο με διήθηση του μυομητρίου ή/και με διηθημένους λεμφαδένες, στοιχεία που σχετίζονται με κακή πρόγνωση και μικρό προσδόκιμο επιβίωσης.

Η τυπική καμπύλη ηλικίας-συχνότητας δείχνει ότι τα περισσότερα περιστατικά διαγιγνώσκονται μετά την εμμηνόπαυση. Η εμφάνιση συμπτωμάτων νωρίς στην πορεία του όγκου εξηγεί γιατί οι περισσότερες γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο κατά την αρχική διάγνωση. Με βάση το Cancer Seer Stat, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, οι εκτιμώμενες νέες περιπτώσεις προσεγγίζουν τις 66,570 νέες περιπτώσεις, ενώ οι εκτιμώμενοι θάνατοι του 2021 τους 12,940. Το ποσοστό των νέων περιπτώσεων καρκίνου της μήτρας, του οποίου ευρύτερη κατηγορία αποτελεί ο καρκίνος του ενδομητρίου, ήταν 28,1 ανά 100.000 γυναίκες ετησίως (<https://seer.cancer.gov/statfacts/>). Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 4,9 ανά 100.000 γυναίκες ετησίως. Αυτά τα ποσοστά είναι προσαρμοσμένα στην ηλικία και βασίζονται σε περιπτώσεις και θανάτους κατά τα έτη 2014-2018. Περίπου το 3,1 % των γυναικών θα διαγνωστούν με καρκίνο της μήτρας κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της ζωής τους, με βάση τα δεδομένα 2012-2018.

Παράγοντες που αυξάνουν το ρίσκο εμφάνισης αυτού του τύπου καρκίνου είναι διαφόρων ειδών (<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/symptoms-causes/syc-20352461>) όπως:

1) Αλλαγές στην ισορροπία των γυναικείων ορμονών. Οι ωοθήκες παράγουν δύο κύριες γυναικείες ορμόνες - τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη. Οι διακυμάνσεις στην ισορροπία αυτών των ορμονών προκαλούν αλλαγές στο ενδομήτριο. Μια ασθένεια ή κατάσταση που αυξάνει την ποσότητα των οιστρογόνων, αλλά όχι το επίπεδο της προγεστερόνης, στο σώμα μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο καρκίνου του ενδομητρίου. Τέτοιες παθολογικές καταστάσεις είναι η ακανόνιστη ωορρηξία, που μπορεί να συμβεί στο σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, η παχυσαρκία και ο διαβήτης. Η λήψη ορμονών μετά την εμμηνόπαυση που περιέχουν οιστρογόνα αλλά όχι προγεστερόνη αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του ενδομητρίου,

2) Περισσότερα χρόνια εμμηνόρροιας. Η έναρξη της εμμηνόρροιας σε μικρή ηλικία - πριν την ηλικία των 12 ετών - ή η εμμηνόπαυση αργότερα αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του εν-

δομητρίου. Όσο περισσότερες εμμηνορρυσιακές περιόδους ολοκληρώνει μια γυναίκα, τόσο περισσότερη έκθεση έχει το ενδομήτριο της σε διακυμάνσεις οιστρογόνων,

3) Απουσία εγκυμοσύνης. Εάν μια γυναίκα δεν έχει υπάρξει ποτέ έγκυος, διατρέχει υψηλότερο κίνδυνο καρκίνου του ενδομητρίου από κάποια που είχε τουλάχιστον μία εγκυμοσύνη,

4) Μεγαλύτερη ηλικία. Καθώς μεγαλώνει η γυναίκα, ο κίνδυνος καρκίνου του ενδομητρίου αυξάνεται. Ο καρκίνος του ενδομητρίου εμφανίζεται συχνότερα μετά την εμμηνόπαυση. Τα τελευταία χρόνια όμως τείνει να συμβαίνει και σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας

5) Παχυσαρκία. Η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του ενδομητρίου. Αυτό μπορεί να συμβεί επειδή το υπερβολικό σωματικό λίπος αλλάζει την ισορροπία των ορμονών του σώματος, καθόσον γίνεται μετατροπή των λιποκυττάρων σε οιστρογόνα.

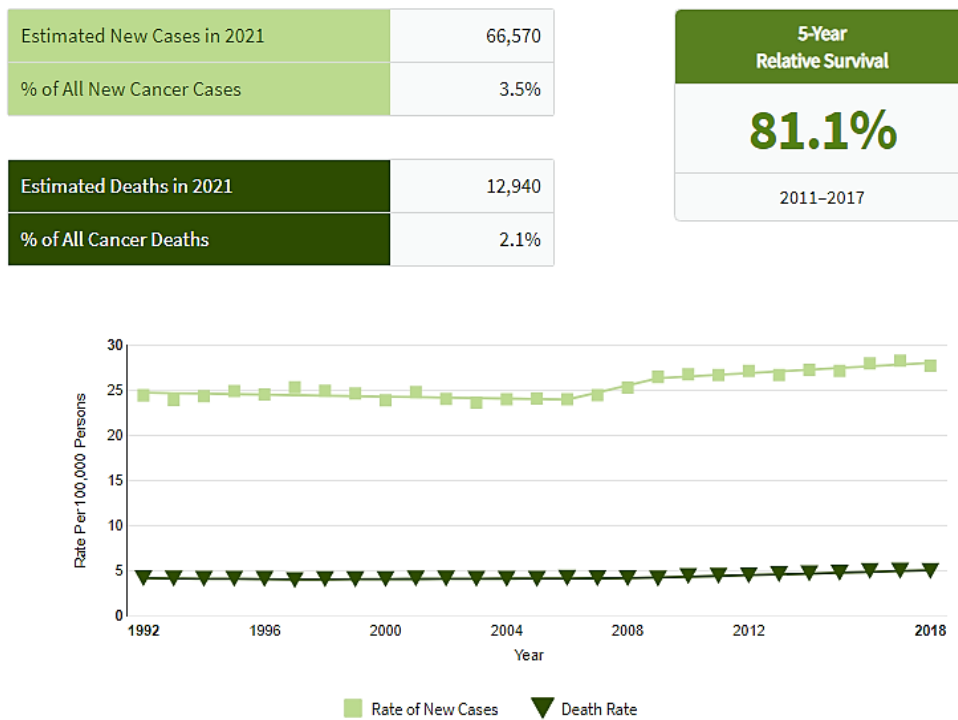
6) Ορμονική θεραπεία για τον καρκίνο του μαστού/θεραπεία υποκατάστασης. Η λήψη της φαρμακευτικής αγωγής ταμοξιφαίνης ορμονικής θεραπείας για τον καρκίνο του μαστού ή ορμονικής υποκατάστασης κατά την εμμηνόπαυση, μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου,

7) Ύπαρξη κληρονομικού συνδρόμου καρκίνου του παχέος εντέρου. Το σύνδρομο Lynch, που ονομάζεται επίσης κληρονομικός μη πολυποδιακός καρκίνος του παχέος εντέρου (HNPCC, Hereditary Non Polyposis Colon Cancer), είναι ένα σύνδρομο που αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του παχέος εντέρου και άλλων καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του ενδομητρίου (Meyer et al., 2009).

8) Τέλος, η συσχέτιση της ενδομητρίωσης με τον καρκίνο του ενδομητρίου. Η παθογένεση στην ενδομητρίωση και τον καρκίνο του ενδομητρίου είναι περίπλοκη και η αιτιοπαθογένεση και των δύο παθολογικών καταστάσεων είναι πολυπαραγοντική, αλλά οι πιθανοί μηχανισμοί σύνδεσης μπορεί να περιέχουν τόσο τη διέγερση οιστρογόνων όσο και τη χρόνια φλεγμονή. Ωστόσο, χρειάζεται ακόμη περαιτέρω διερεύνηση για να εξηγηθούν πλήρως οι ακριβείς μηχανισμοί μεταξύ αυτών των δύο παθολογικών καταστάσεων (Kajiyama et al., 2019).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, η σχετική επιβίωση του καρκίνου του ενδομητρίου, ανέρχεται στο 81,1%, είναι μια εκτίμηση του ποσοστού των ασθενών που αναμένεται να

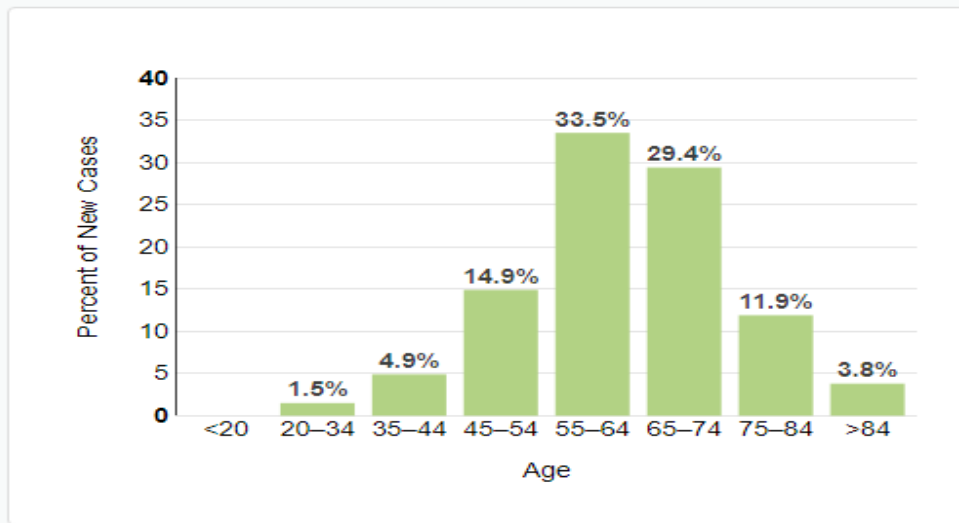
επιβιώσουν από τις επιπτώσεις του καρκίνου αποκλείοντας τον κίνδυνο θανάτου από άλλες αιτίες (εικ.19).



Εικόνα 19. Στατιστικά των νέων περιπτώσεων καρκίνου του ενδομητρίου και των εκτιμώμενων θανάτων από το 1992 έως το 2018 κατά SEER stat (<https://seer.cancer.gov/statfacts/>).

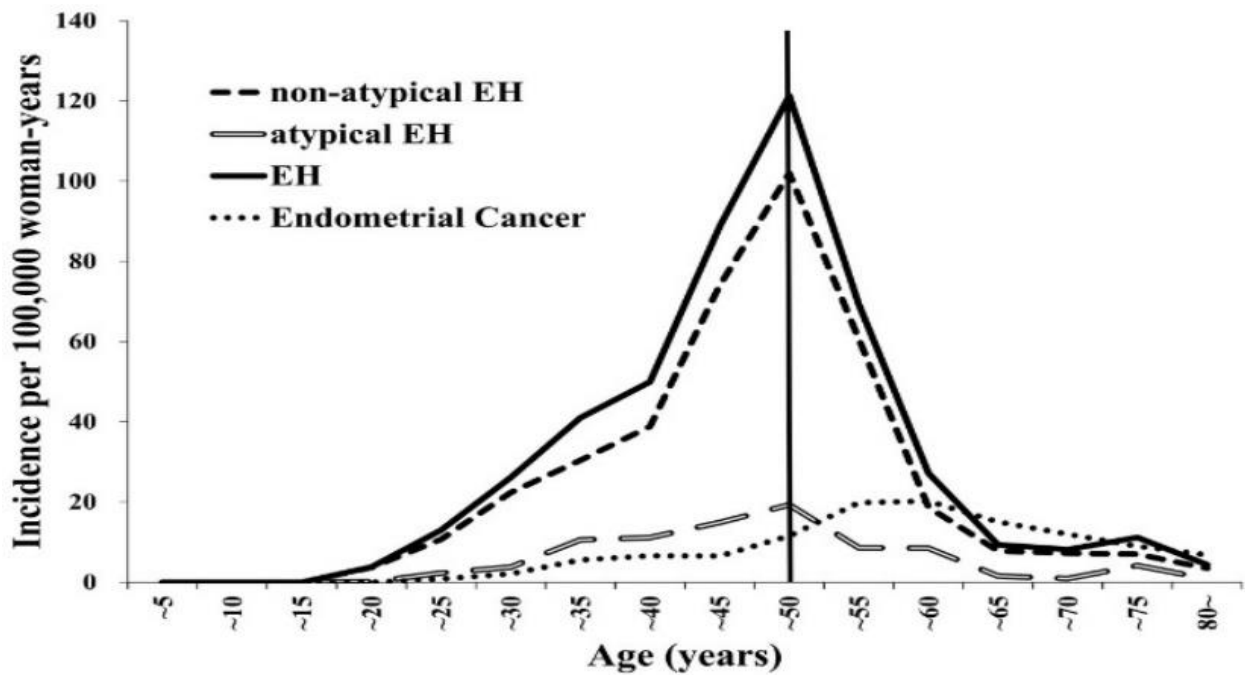
Ο μέσος όρος ηλικίας διάγνωσης είναι τα 63 έτη. Ο καρκίνος της μήτρας διαγιγνώσκεται συχνότερα σε γυναίκες ηλικίας 55-64 ετών (ενώ το ποσοστό των θανάτων από καρκίνο της μήτρας είναι υψηλότερο μεταξύ των γυναικών ηλικίας 65-74 ετών (εικ.20)).

Percent of New Cases by Age Group: Uterine Cancer



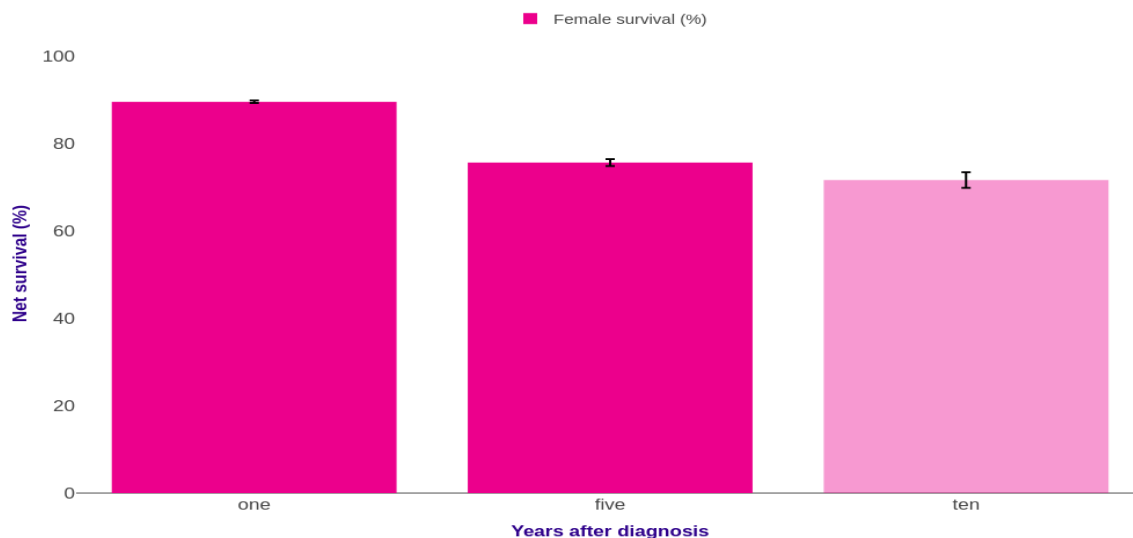
Εικόνα 20. Ποσοστά καρκίνου της μήτρας ανά ηλικιακή δεκαετία (<https://seer.cancer.gov/statfacts/>).

Δεδομένα από μία πληθυσμιακή μελέτη τεσσάρων χρόνων στην Κορέα κατέδειξε τα ποσοστά εμφάνισης της υπερπλασίας του ενδομητρίου και του καρκίνου του ενδομητρίου. 2.477.424 γυναίκες εισήχθησαν στη βάση δεδομένων μεταξύ 2009 και 2012 και τα δεδομένα από 1.868 γυναίκες με υπερπλασία ενδομητρίου και 868 γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου εξήχθησαν για ανάλυση. Οι μέσες ηλικίες των ασθενών ήταν $44,1 \pm 0,4$ έτη για εκείνες με υπερπλασία και $52,7 \pm 0,6$ έτη για εκείνες με καρκίνο (εικ.21). Τα ποσοστά εμφάνισης υπερπλασίας του ενδομητρίου και του καρκίνου του ενδομητρίου ήταν 37 ανά 100.000 γυναίκες/έτη και 8 ανά 100.000 γυναίκες/έτη, αντίστοιχα (<https://peerj.com/articles/2374/>). Γενικά, αξίζει να σημειωθεί ότι σε κάθε πληθυσμό υπάρχουν μικρές διακυμάνσεις ως προς την κορύφωση της ηλικιακής δεκαετίας εμφάνισης.

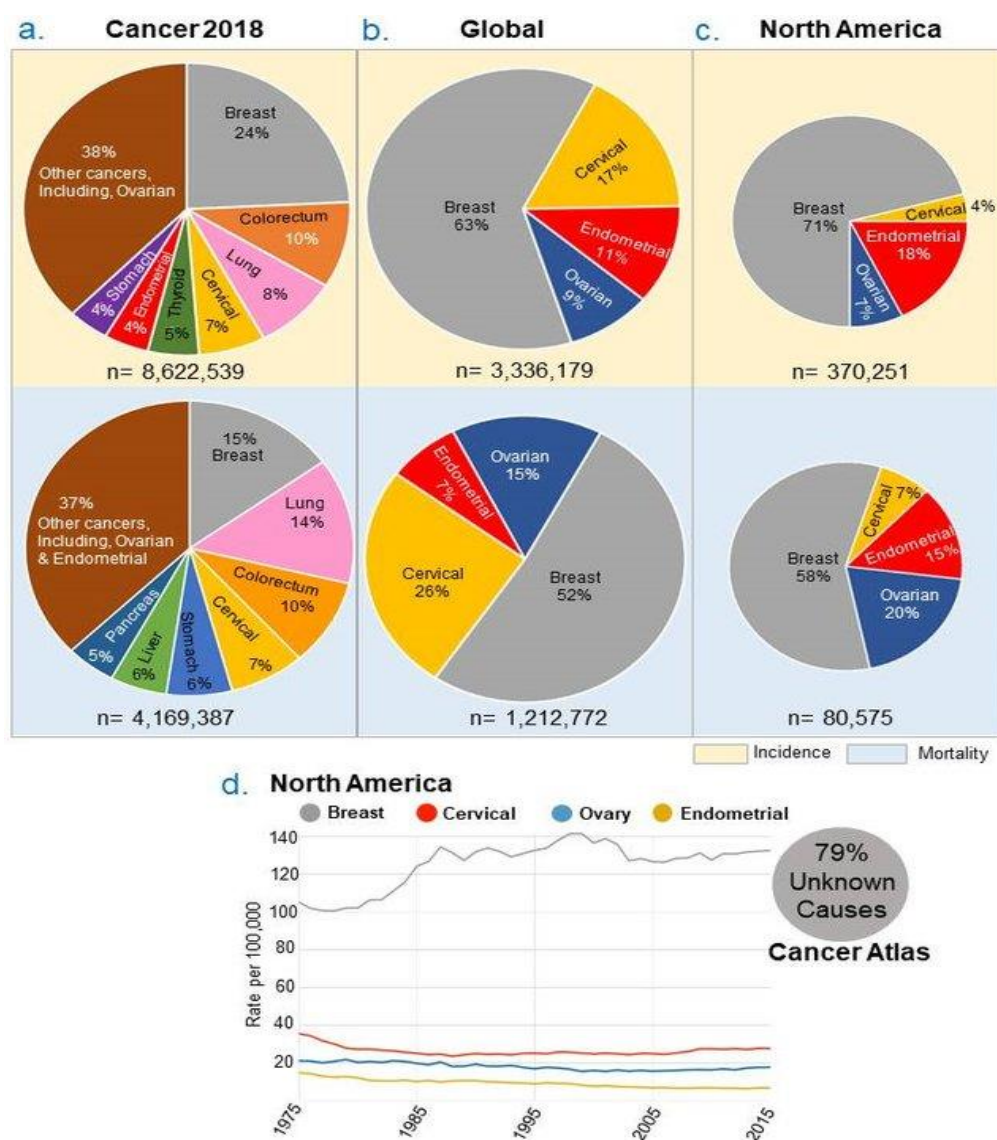


Εικόνα 21. Οι τάσεις στα ποσοστά επίπτωσης της υπερπλασίας του ενδομητρίου, μη-άτυπης υπερπλασίας, άτυπης υπερπλασίας και του καρκίνου του ενδομητρίου από το 2009 έως το 2012. Ταξινόμηση της συχνότητας των 4 παθολογικών καταστάσεων ανά 5 έτη (Yuk et al., 2016).

Από στοιχεία που προκύπτουν από άλλες βάσεις δεδομένων όπως του Ηνωμένου Βασιλείου, διαπιστώνεται το υψηλό ποσοστό της δεκαετούς επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου (εικ.22).



Εικόνα 22. Το ραβδόγραμμα δείχνει την καθαρή επιβίωση ενός και πέντε ετών και την προβλεπόμενη δεκαετή καθαρή επιβίωση, CI 95% (διάστημα εμπιστοσύνης) (<https://www.cancerresearchuk.org/>).

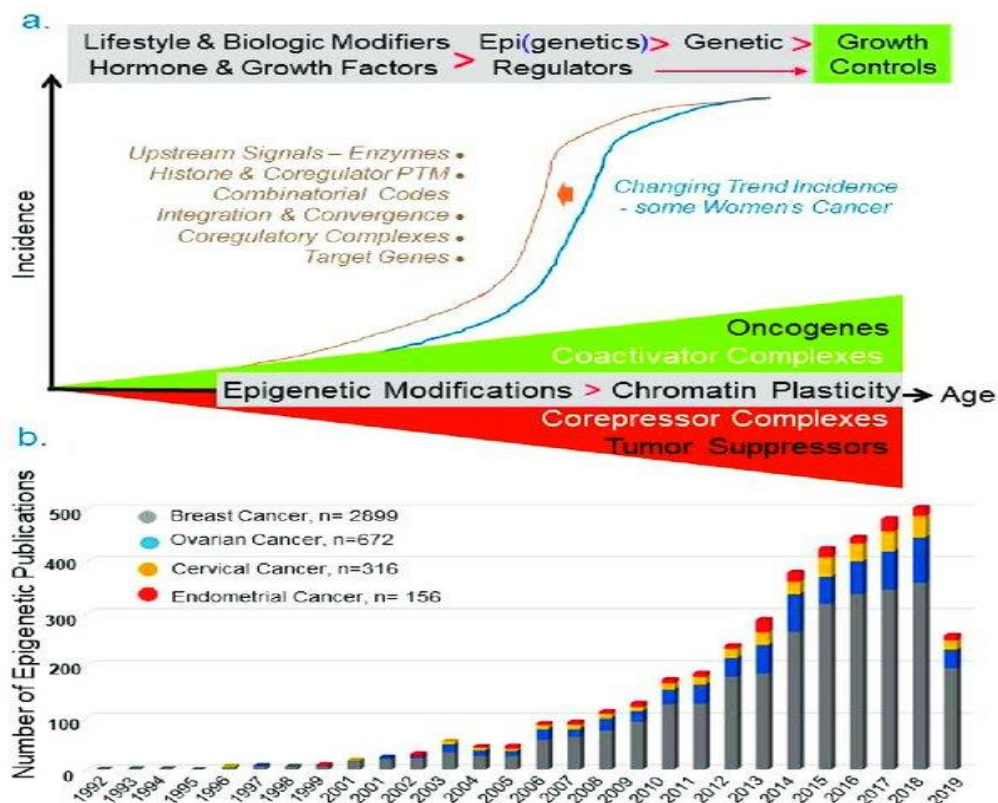


Εικόνα 23. Μεταβαλλόμενη τάση των γυναικείων καρκίνων το έτος 2018, παγκοσμίως αλλά και στη Βόρεια Αμερική (Kumar et al., 2019).

Πρόσφατα συγκεντρωτικά στατιστικά στοιχεία για τον καρκίνο υποδηλώνουν τη δυσανάλογα υψηλή συχνότητα εμφάνισης νέων περιπτώσεων γυναικείων καρκίνων, όπως, καρκίνου μαστού, ωθηκών, τραχήλου μήτρας και ενδομητρίου (38,8% της συνολικής παγκόσμιας επίπτωσης καρκίνου στις γυναίκες) καθώς και των θανάτων από καρκίνο. Στη Βόρεια Αμερική, αυτοί οι αριθμοί είναι εξίσου εντυπωσιακοί, αντιπροσωπεύοντας το 33,4% των νέων περιπτώσεων και το 24,1% της θνησιμότητας στο σύνολο των καρκίνων (εικ. 23 a,b) (Kumar et al., 2019). Μεταξύ των γυναικείων καρκίνων, ο καρκίνος του μαστού εξακολουθεί να είναι ο πιο κοινός καρκίνος, παγκοσμίως, συμπεριλαμβανομένης της Βόρειας Αμερικής. Μετά τον μαστό, ο δεύτερος και τρίτος συχνότερος γυναικείος καρκίνος στη Βόρεια Αμερική

είναι οι καρκίνοι του ενδομητρίου και των ωοθηκών, ενώ παγκοσμίως είναι οι καρκίνοι του ενδομητρίου και του τραχήλου της μήτρας. Γενικά πιστεύεται ότι το περιβάλλον και ο τρόπος ζωής, καθώς και άλλοι κρίσιμοι εξωγενείς παράγοντες μπορεί να αποτελούν τροποποιήσιμες μεταβλητές στην εξέλιξη του γυναικείου καρκίνου μέσω επιγενετικών μηχανισμών (εικ. 24α).

Οι καρκίνοι σε νεότερες γυναίκες ενδέχεται να παρέχουν νέα δεδομένα για ρυθμιστικά στοιχεία που θα βοηθήσουν στην αντιμετώπιση των νέων περιπτώσεων καρκίνου του ενδομητρίου και του μαστού στις γυναίκες, παρέχοντας λεπτομέρειες του μηχανισμού δράσης και θεραπευτικές προσεγγίσεις και για τους τέσσερις τύπους γυναικείων καρκίνων που παρουσιάζουν και αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον (εικ. 24β).



Εικόνα 24. Μεταβαλλόμενες τάσεις στη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου στις γυναίκες. (α) Τροποποίηση της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων από επιγενετικούς ρυθμιστές με ή χωρίς την επίδραση γενετικού ελέγχου. (β) Αριθμός δημοσιεύσεων για τα έτη 1992 μέχρι τις 12 Μαΐου 2019 και αναζήτηση για επιγενετική (μελέτη των κληρονομικών αλλαγών του φαινοτύπου που δεν εμπεριέχουν τροποποιήσεις στην αλληλουχία του DNA) και επιγενετική σε καρκίνο μαστού», καρκίνο ωοθηκών, καρκίνο τραχήλου μήτρας ή καρκίνο του ενδομητρίου για τα ανωτέρω έτη (Kumar et al., 2019).

5.1. Σταδιοποίηση

Τα στάδια κατά FIGO του καρκίνου του ενδομητρίου με βάση το σύστημα TNM είναι είναι τα ακόλουθα: (<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html>; Μανου, 2012) (εικ.25).

Στάδιο IA - Ο όγκος περιορίζεται στο ενδομήτριο ή εισβάλλει σε λιγότερο από το μισό του μυομητρίου

Στάδιο IB - Ο όγκος διηθεί το ήμισυ ή περισσότερο του μυομητρίου

Στάδιο II - Ο όγκος διηθεί στον στρωματικό συνδετικό ιστό του τραχήλου αλλά δεν επεκτείνεται πέρα από τη μήτρα

Στάδιο IIIA - Ο όγκος διηθεί τον ορρογόνο χιτώνα (serosa) και/ή και τα εξαρτήματα (ωοθήκες/σάλπιγγες)

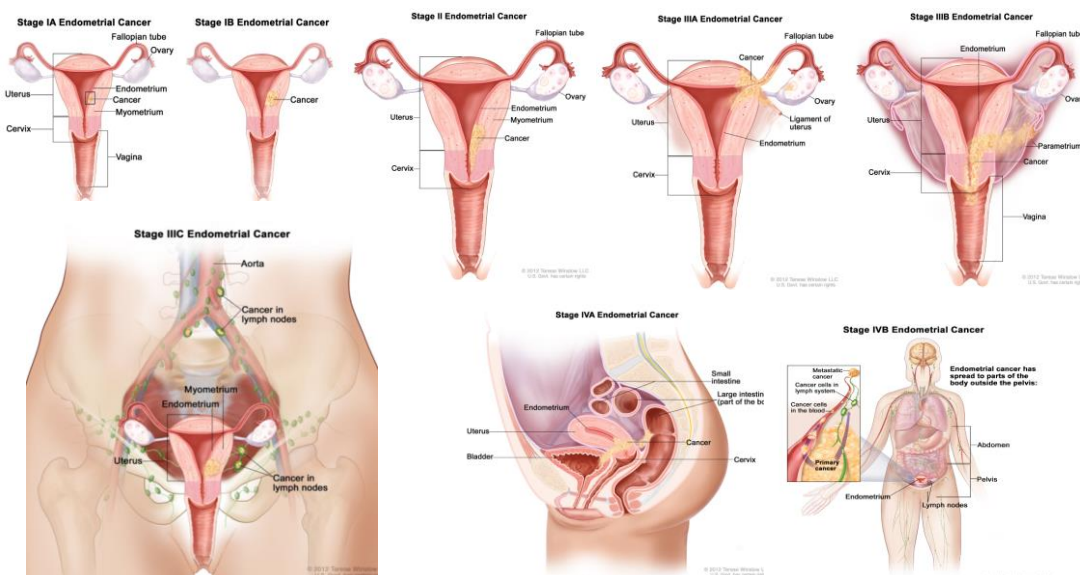
Στάδιο IIIB – Διήθηση κόλπου ή διήθηση των παραμητρίων

Στάδιο IIIC1 - Μεταστάσεις επιχώριων πυελικών λεμφαδένων

Στάδιο IIIC2 - Μεταστάσεις απομακρυσμένων παρααορτικών λεμφαδένων με ή χωρίς διήθηση στους πυελικούς λεμφαδένες

Στάδιο IVA - Ο όγκος μεθίσταται στο βλεννογόνο της ουροδόχου κύστης και/ή στο βλεννογόνο του ορθού

Στάδιο IVB - Ο καρκίνος έχει επεκταθεί στους βουβωνικούς λεμφαδένες και/ή σε απομακρυσμένα όργανα εκτός πυέλου, όπως πνεύμονες και οστά .



Εικόνα 25. Στάδια καρκίνου του ενδομητρίου
 (<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html>).

Παρότι η αναγνώριση του σταδίου είναι σημαντική, το στάδιο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα για να προσδιοριστεί η ανάγκη για μετεγχειρητική θεραπεία. Για παράδειγμα, ένας ασθενής με στάδιο I μπορεί να μην απαιτεί θεραπεία, χημειοθεραπεία ή συνδυασμό χημειοθεραπείας και ακτινοβολίας ανάλογα με την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου, συμπεριλαμβανομένου του βαθμού όγκου (tumor grade), του βάθους της διήθησης στο μυομήτριο και της λεμφαδενικής διήθησης.

5.2. Γενετικό προφίλ ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου

Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου παρέχει κλινικά σχετικές και προγνωστικές πληροφορίες ικανές να επηρεάσουν επικουρικές στρατηγικές θεραπείας. Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου ακολουθεί την ταξινόμηση που προτείνει ο Άτλαντας του γονιδιώματος του καρκίνου, TCGA (The Cancer Genome Atlas). Ωστόσο, αναμένεται περαιτέρω βελτίωση αυτής της ταξινόμησης λόγω της ετερογένειας του μοριακού προφίλ που βασίζεται σε αλλαγές στα μονοπάτια σηματοδότησης PI3K-Akt και Wnt (Gilks et al., 2013).

Οι PIK3CA, ARID1A, TP53, PIK3R1 και MUC16 είναι οι πιο συχνές μεταλλάξεις σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομήτριου και όλες έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με την πρόγνωση. Οι μεταλλάξεις PIK3CA, ARID1A και MUC16 συσχετίστηκαν με ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ οι μεταλλάξεις TP53 και PIK3R1 συσχετίστηκαν με κακή πρόγνωση (Althubiti, 2019; Hu & Sun, 2018).

Όλοι οι καρκίνοι προκαλούνται από αλλοιώσεις στην αλληλουχία του DNA συμπεριλαμβανομένων των σωματικών μεταλλάξεων των γονιδιωμάτων σε φυσιολογικά κύτταρα. Οι πολυμεράσες DNA (PolS) είναι σημαντικά ένζυμα που εμπλέκονται στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA in vivo. Σύμφωνα με την ομοιότητα της πρωτεϊνικής αλληλουχίας, τα PolS κατηγοριοποιούνται σε έξι οικογένειες: A, B, C, D, X και Y. Τα pols α, δ και ε είναι τρεις πολυμεράσες DNA απαραίτητες κατά την αντιγραφή του DNA σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς (Park & Pursell, 2019). Το POLE (p261) κωδικοποιεί την πολυμεράση DNA ε, η οποία είναι ένα ετεροτετραμερές (p261, p59, p17, p12) (Bermudez et al., 2011; Reha-Krantz, 2010) και είναι υπεύθυνη για την αντιγραφή του DNA του κύριου κλώνου (Pursell et al., 2007). Το POLE περιέχει τη θέση (domain) της εξωνουκλεάσης για να εξασφαλίσει χαμηλούς ρυθμούς μεταλλάξεων σε αναπαραγόμενα κύτταρα (Heitzer & Tomlinson, 2014). Πρώιμες μελέτες έδειξαν ότι οι μεταλλάξεις POLE παρατηρήθηκαν στον καρκίνο του παχέος εντέρου, στον καρκίνο του παγκρέατος, στον καρκίνο των ωοθηκών, στο γλοίωμα και στον καρκίνο του ενδομητρίου (Billingsley et al., 2015; Erson-Omay et al., 2015; Guenther et al., 2018; Guerra et al., 2017). Στην προκειμένη περίπτωση του καρκίνου του ενδομητρίου, οι μεταλλάξεις της εξωνουκλεάσης POLE μπορούν να χρησιμεύσουν ως σημαντικός προγνωστικός μοριακός δείκτης που σχετίζεται με εξαιρετικά αποτελέσματα και καθοδηγεί τη διαχείριση ασθενών.

Έχει δειχθεί ότι οι POLE μεταλλάξεις βελτιώνουν την πρόγνωση του καρκίνου του ενδομήτριου μέσω της ρύθμισης του κυτταρικού μεταβολισμού μέσω της μεταγωγής σήματος AMF/AMFR (Li et al., 2019). Αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να παρέχουν νέες και πολλά υποσχόμενες προσεγγίσεις για την κλινική θεραπεία του καρκίνου του ενδομήτριου.

Μία άλλη μοριακή αλλαγή που ξεχωρίζει ως προς τη συχνότητα είναι η παρουσία μεταλλάξεων στο εξώνιο 3 του CTNNB1 γονιδίου που καθοδηγεί τη σύνθεση της πρωτεΐνης β-κατενίνη (52%), η οποία έχει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση και επικοινωνία των κυττάρων μεταξύ τους, εμποδίζοντας τη διάσπασή τους. Επιπλέον, ανεξάρτητα από τα δεδομένα του TCGA, οι μεταλλάξεις του εξωνίου 3 του CTNNB1 αποδείχθηκε ότι έχουν προγνωστική σημασία σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο. Μορφολογικά, το εξώνιο 3 της CTNNB1 μετάλλαξης σχετίζεται με πλακώδη διαφοροποίηση. Μελέτες που διερευνούν τόσο τον προσδιορισμό της αλληλουχίας γονιδίων β-

catenin όσο και CTNNB1 έχουν αναφέρει διαφορετικά ποσοστά συμφωνίας, με αποτέλεσμα το συμπέρασμα ότι η β-catenin είναι ανεπαρκής για να λειτουργήσει ως αντιστάθμιση για την μετάλλαξη του CTNNB1 (Kurnit et al., 2017; Liu et al., 2014), καθόσον οι μεταλλάξεις του εξωνίου 3 του CTNNB1 είναι πιθανώς ένας οδηγός που χαρακτηρίζει ένα επιθετικό υπότυπο ενδομητριοειδούς καρκίνου ενδομητρίου (EEC) σε νέες γυναίκες.

Πρόσθετα, οι γυναίκες με σύνδρομο Lynch II φιλοξενούν μεταλλάξεις σε γονίδια MLH1, MSH2, MSH6, PMS1 και PMS2. Αυτές οι μεταλλάξεις κληρονομούνται με αυτοσωμικό κυρίαρχο τρόπο με 80% έως 85% διεισδυτικότητα. Οι ασθενείς εμφανίζουν πρώιμη ηλικία εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου, της μήτρας, των ωοθηκών και άλλων οργάνων. Ο κίνδυνος διαβίου καρκίνου του ενδομητρίου είναι 30% έως 60% και ο κίνδυνος διαβίου καρκίνου των ωοθηκών είναι 10% έως 12% (Sriramulu et al., 2019; Ueki & Hirasawa, 2020). Οι οδηγίες του Άμστερνταμ και της Bethesda έχουν χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό ασθενών που κινδυνεύουν από το σύνδρομο Lynch I. Ασθενείς που υποπτεύονται ότι έχουν κληρονομικό καρκίνο του ενδομητρίου πρέπει να παραπέμπονται σε γενετιστή για αξιολόγηση.

Εκτός των γενετικών μεταλλάξεων, ο επιτυχής προσδιορισμός γενετικών παραλλαγών, όπως οι πολυμορφισμοί μεμονωμένων νουκλεοτιδίων (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs), που συμβάλλουν στην ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη κλινικών δοκιμών για τον εντοπισμό ευαίσθητων γενετικών προφίλ μέσω μιας απλής εξέτασης αίματος ή βιοψίας ενδομητρίου.

Περίπου το 30% των καρκίνων του ενδομητρίου παρουσιάζουν μικροδορυφορική αστάθεια μέσω του μηχανισμού επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (Goodfellow et al., 2003). Η επιγενετική σίγαση του MLH1, που αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, έχει αναφερθεί ως η πιο κοινή αιτία ελαττωμάτων στην αποκατάσταση βλαβών DNA (Esteller et al., 1998). Χρησιμοποιώντας οκτώ MLH1 SNPs, ο Chen και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μία μελέτη ελέγχου περιπτώσεων σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου των οποίων οι όγκοι παρουσίαζαν μεθυλίωση MLH1 σε σύγκριση με ασθενείς των οποίων οι όγκοι δεν είχαν μεθυλίωση (Chen et al., 2007). Αυτή η μελέτη αντιπροσωπεύει μία μοναδική εφαρμογή ανάλυσης SNP επιδεικνύοντας μια κληρονομική προδιάθεση για επιγενετική σίγαση του MLH1 μέσω της αναγνώρισης των αλληλόμορφων γονιδίων κινδύνου για τη μεθυλίωση του MLH1. Σε αυτή τη μελέτη, ο SNP rs1800734 στις MLH1 CpG νησίδες συσχετίστηκε σημαντικά με μεθυλίωση MLH1 σε γυναίκες εντός της ομάδας του Saint Louis ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου ($p = 0,005$). Αυτό το εύρημα επικυρώθηκε σε μια ομάδα ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου, αλλά όχι σε μια μι-

κρότερη ομάδα ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου από τον Κολόμβο (50% της δύναμης της ομάδας του Saint Louis), η οποία δεν κατάφερε να βρει συσχέτιση (Chen et al., 2007).

Συμπερασματικά, η ταυτοποίηση των αλληλόμορφων κινδύνου για τη μεθυλίωση του MLH1 είναι πιθανό να αποκαλύψει τους μηχανισμούς της επιγενετικής σίγασης και να οδηγήσει σε νέες προσεγγίσεις στην πρόληψη ή θεραπεία των κακοηθειών που σχετίζονται με την αδρανοποίηση του MLH1.

5.3. Ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του ενδομητρίου

1. Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα (εικ.26 a,b)

Υπότυποι:

- Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα με πλακώδη διαφοροποίηση
- Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα
- Εκκριτικό αδενοκαρκίνωμα
- Αδενοκαρκίνωμα με κροσσωτά κύτταρα
- Λαχνοαδενικό αδενοκαρκίνωμα
- Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα με διαφοροποίηση κυττάρων Sertoli

2. Ορώδες καρκίνωμα (εικ. 26c)

3. Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα (εικ. 26d)

4. Καρκινοσάρκωμα (εικ.27)

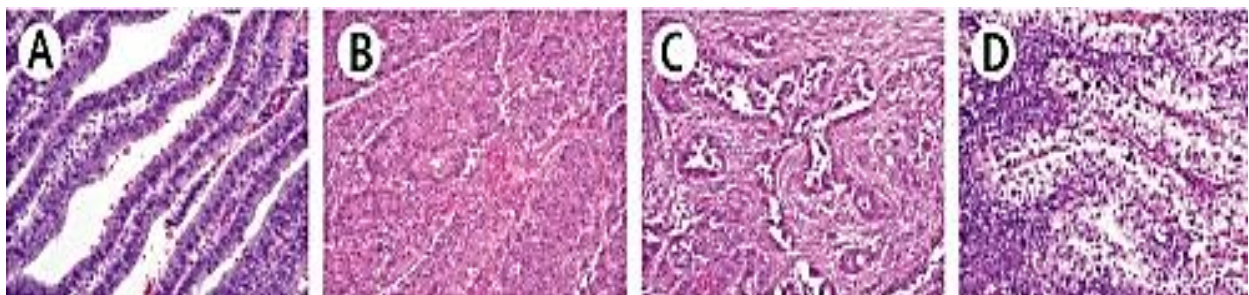
5. Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα (εικ.28)

6. Νευροενδοκρινικό καρκίνωμα

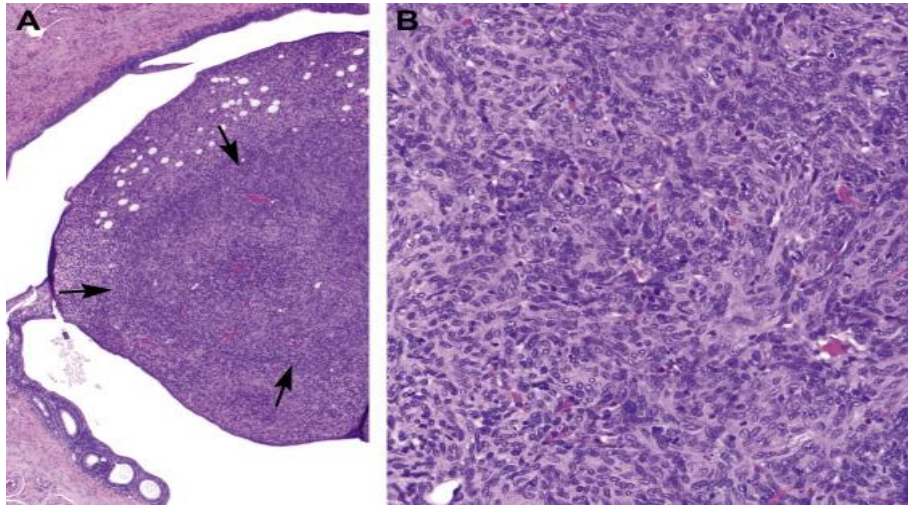
7. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

8. Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα

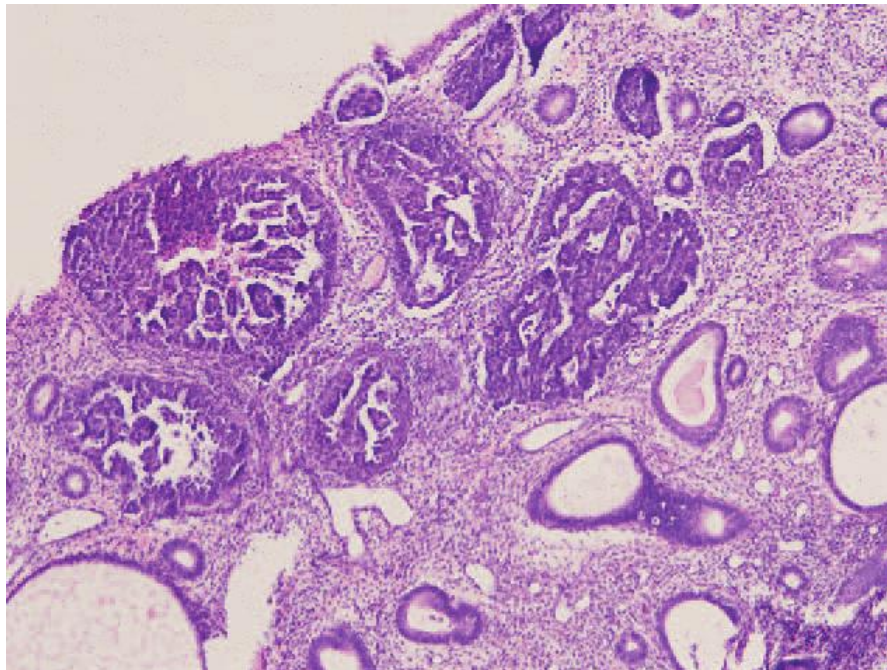
9. Διάφοροι τύποι



Εικόνα 26. Ιστολογικοί τύποι. Ενδομητριοειδής ιστολογικός τύπος A) χαμηλού και B) υψηλού βαθμού, C) Ορώδες και D) Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα (Murali et al., 2014).



Εικόνα 27. Στρωματικό καρκινোসάρκωμα ενδομητρίου (μεικτός όγκος) (Darlene et al., 2018).



Εικόνα 28. Φτωχά διαφοροποιημένος με αναπλαστική ανάπτυξη καρκίνος του ενδομητρίου (Grade III). Πηγή: (https://www.researchgate.net/publication/325747877_Three_primary_synchronous_malignancies_of_the_uterus_cervix_and_fallopian_tube_A_case_report/figures?lo=1).

5.4. Μοριακή ταξινόμηση

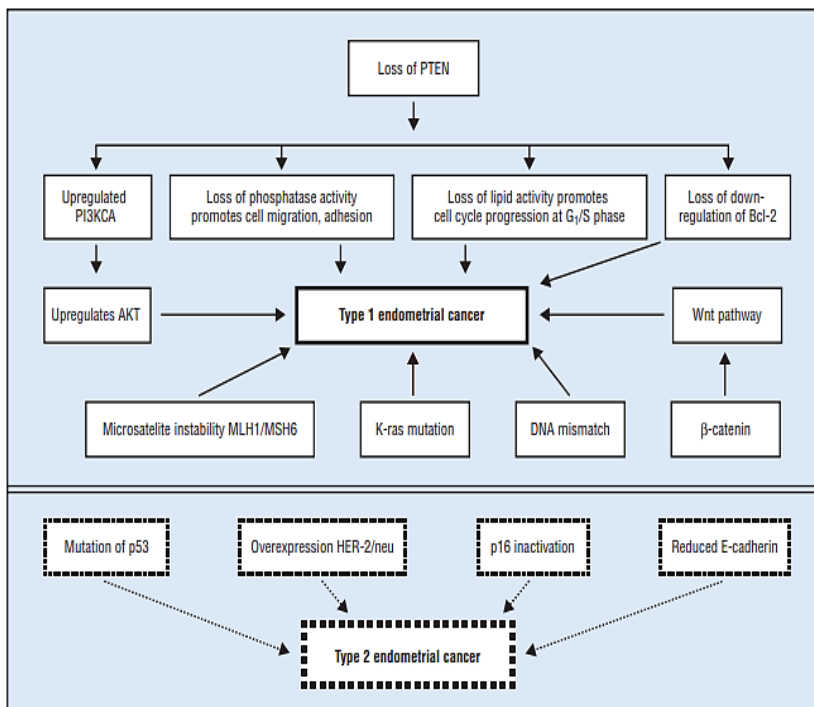
Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου αποκάλυψε μια σημαντική ετερογένεια όγκων με διαφορετικό ιστολογικό τύπο και βαθμό (grade). Έχουν ταξινομηθεί δύο βασικοί τύποι: (εικ.29)

- 1) Τύπος I Ενδομητρικού Καρκίνου (80%) που εμφανίζει τα εξής χαρακτηριστικά:

- Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα, ιστολογικός τύπος
- Μετάλλαξη PTEN και ταυτόχρονη μικροδορυφορική αστάθεια
- Ενδομητρική υπερπλασία σε νέες γυναίκες
- Καλή πρόγνωση
- Εξάρτηση από τα οιστρογόνα

2) Τύπος II Ενδομητρικού Καρκίνου (20%) που εμφανίζει τα εξής χαρακτηριστικά:

- Κυρίως ορώδεις ιστολογικοί τύποι (σε μεγάλο βαθμό ενδομητριοειδείς, ορώδεις και διαυγοκυτταρικοί
- μεταλλάξεις p53 και υπερέκφραση HER-2
- Ατροφικό ενδομήτριο σε ηλικιωμένες γυναίκες
- κακή πρόγνωση
- Μη οιστρογονικοί όγκοι



Genetic Alteration	Type 1 Carcinoma (%)	Type 2 Carcinoma (%)
PTEN inactivation	50–80	10
K-ras mutation	15–30	0–5
β -catenin mutation	20–40	0–3
Microsatellite instability	20–40	0–5
p53 mutation	10–20	80–90
HER-2/neu	10–30	40–80
p16 inactivation	10	40
E-cadherin	10–20	60–90

Εικόνα 29. Μοριακή βάση των τύπου 1 και 2 καρκίνου του ενδομητρίου (Bansal et al., 2009, Banno et al., 2013).

5.5. Θεραπευτικές προσεγγίσεις καρκίνου ενδομητρίου

Η χειρουργική επέμβαση είναι συχνά η κύρια θεραπεία για τον καρκίνο του ενδομητρίου και αποτελείται από υστερεκτομή, συχνά μαζί με σαλπινγο-ωθηκεκτομή, και αφαίρεση λεμφαδένων. Σε ορισμένες περιπτώσεις γίνονται πλύσεις της πυέλου και περιτοναϊκή βιοψία. Σε περίπτωση που ο καρκίνος, έχει εξαπλωθεί σε όλη την πύελο και την κοιλιακή χώρα η διαδικασία αφαίρεσης γίνεται πιο περίπλοκη.

Άλλη εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση είναι η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιεί ακτινοβολία υψηλής ενέργειας (όπως ακτίνες X) για να θανατώσει τα καρκινικά κύτταρα. Μπορεί να χορηγηθεί με 2 τρόπους για τη θεραπεία του καρκίνου του ενδομητρίου:

- Με την τοποθέτηση ραδιενεργών υλικών στο εσωτερικό του σώματος. Αυτό ονομάζεται εσωτερική ακτινοθεραπεία ή βραχυθεραπεία
- ή χρησιμοποιώντας ένα μηχάνημα που εστιάζει δέσμες ακτινοβολίας στον όγκο. Αυτό ονομάζεται εξωτερική ακτινοθεραπεία

(<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/treating/immunotherapy.html>).

Άλλου είδους θεραπεία είναι η στοχευμένη θεραπεία με φάρμακα που παρασκευάζονται για να στοχεύουν ορισμένες αλλαγές στα καρκινικά κύτταρα. Τα φάρμακα στοχευμένης θεραπείας λειτουργούν διαφορετικά από τα τυπικά φάρμακα χημειοθεραπείας. Τείνουν να έχουν διαφορετικές (και μερικές φορές λιγότερο σοβαρές) παρενέργειες από τη χημειοθεραπεία. Μερικά από αυτά όπως αναστολείς mTOR (Everolimus, Temsirolimus), το Lenvatinib ή

το Bevacizumab δίνονται μόνο ως μέρος μιας κλινικής δοκιμής, αλλά πολλά άλλα βρίσκονται υπό μελέτη (Roncolato et al., 2019). Αυτά τα φάρμακα χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον για τη θεραπεία καρκίνων του ενδομήτριου υψηλού κινδύνου και εκείνων που έχουν εξαπλωθεί (μεταστάσεις) ή επανεμφανίζονται (υποτροπιάζουν) μετά τη θεραπεία. Ο FDA ενέκρινε το συνδυασμό Lenvatinib (Lenvima) και Pembrolizumab (Keytruda) για τη θεραπεία ασθενών με προχωρημένο καρκίνο του ενδομήτριου που δεν έχουν υψηλού βαθμού μικροδορυφορική αστάθεια, δηλαδή, μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων, (MSI-H, Microsatellite instability-High) ή μειωμένη επιδιόρθωση βλαβών (MMR, Mismatch Repair Genes), οι οποίοι δεν είναι υποψήφιοι για θεραπευτική χειρουργική ή ακτινοβολία (<https://www.targetedonc.com/view/fda-approves-lenvatinib-pembrolizumab-for-select-patients-with-advanced-endometrial-cancer>, 2021).

Μία άλλη θεραπευτική αντιμετώπιση είναι αυτή με ορμόνες ή φάρμακα που αναστέλλουν τις ορμόνες για τη θεραπεία του καρκίνου. Δεν είναι το ίδιο με την ορμονοθεραπεία που χορηγείται για την ανακούφιση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης (εμμηνόπαυσιακή ορμονοθεραπεία). Χρησιμοποιείται συχνότερα για τη θεραπεία του καρκίνου του ενδομήτριου που είναι προχωρημένος (στάδιο III ή IV) ή έχει υποτροπιάσει. Η ορμονοθεραπεία χρησιμοποιείται συχνά μαζί με τη χημειοθεραπεία (<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/treating/immunotherapy.html>).

Η ορμονική θεραπεία για τον καρκίνο του ενδομητρίου μπορεί να περιλαμβάνει: Προγεστίνες (κύρια ορμονική θεραπεία), Ταμοξιφαίνη, Ανταγωνιστές ορμόνης απελευθέρωσης ωχρινοτρόπου ορμόνης (ανταγωνιστές LHRH, Luteinizing Hormone Releasing Hormone), Αναστολείς αρωματάσης (AIs, Aromatase inhibitors) αλλά μέχρι σήμερα, κανένας τύπος ορμονικής θεραπείας δεν έχει βρεθεί ότι είναι ο καλύτερος για τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Η χρήση πρωτεϊνών-σημείων ελέγχου (check-point proteins) στα κύτταρα του ανοσοποιητικού έχει δειχθεί ως μια εναλλακτική θεραπεία. Αυτές λειτουργούν σαν διακόπτες που πρέπει να ενεργοποιηθούν (ή να απενεργοποιηθούν) για να ξεκινήσει μια ανοσολογική απόκριση. Τα καρκινικά κύτταρα μερικές φορές χρησιμοποιούν αυτά τα σημεία ελέγχου για να αποφύγουν την επίθεση από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα φάρμακα που στοχεύουν σε αυτά τα σημεία ελέγχου που ονομάζονται αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors), μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία ορισμένων καρκίνων του ενδομήτριου, όπως οι αναστολείς PD-1 (Pembrolizumab (Keytruda) (<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/treating/immunotherapy.html>) και το

Dotarlimab (Jemperli) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί κυρίως για τη θεραπεία προχωρημένων καρκίνων του ενδομητρίου.

Έχει προταθεί ο συνδυασμός επιγενετικών ρυθμιστών, όπως, του αναστολέα της DNA μεθυλοτρανσφεράσης (DNMT) και της DNA διακετυλάσης της ιστόνης (HDAC, Histone Deacetylase) που ήδη χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και τη λευχαιμία από T-λεμφοκύτταρα, με τη χημειοθεραπεία, την ορμονοθεραπεία και τη στοχευμένη θεραπεία.

Επιπλέον, πληθώρα θεραπειών RNA βρίσκονται σε κλινική ανάπτυξη φάσης II ή III, συμπεριλαμβανομένων νεότερων οντοτήτων όπως μιμητικών miRNAs και antimirs (Winkle et al., 2021), αλλά κανένα θεραπευτικό μόριο με βάση το μακρύ μη κωδικοποιητικό RNA (lncRNA, Long non-coding RNA), δεν έχει εισέλθει στην κλινική πράξη.

6. miRNAs ως θεραπευτική αγωγή στον καρκίνο

Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης επιτυγχάνεται τόσο σε επίπεδο mRNA, όσο και σε επίπεδο miRNAs και long non-coding RNAs. Η «λεπτή ρύθμιση» επισυμβαίνει με το δίκτυο που σχηματίζουν τα δύο τελευταία με τους άμεσους ή έμμεσους mRNA-στόχους τους. Απειροελάχιστες αλλαγές στην έκφρασή τους (αυξορύθμιση ή μειορύθμιση) μπορούν να επιφέρουν καταρράκτη γεγονότων. Πιο συγκεκριμένα, τα miRNAs είναι μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές που εμπλέκονται σε μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών. Απορρύθμιση και διαταραχές έκφρασής τους οδηγούν σε παθολογικές καταστάσεις συμπεριλαμβανομένης της καρκινογένεσης και αντοχής στη θεραπεία (Delangle et al., 2019; Jeanteur, 2010).

Οι ερευνητές απέδειξαν με επιτυχία τη δράση των miRNAs ως ευαισθητοποιητές όγκων σε φάρμακα (Di Stefano et al., 2016; Sin et al., 2016). Τα διαφορετικά miRNAs περιορίζονται σε ορισμένους τύπους όγκων, υποδεικνύοντας τις ειδικές για τον ιστό λειτουργίες τους στον καρκίνο. Γυναικολογικές κακοήθειες όπως ο καρκίνος του ενδομητρίου χαρακτηρίζονται συχνά τόσο από γενετικές όσο και από επιγενετικές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA, τροποποιήσεων των ιστονών και ανώμαλη έκφραση πολλών miRNAs, με αποτέλεσμα την τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση και μοτίβα που ευνοούν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Balch et al., 2010).

Για τη μελέτη της πιθανής άμεσης θεραπευτικής αντιμετώπισης του καρκίνου του ενδομητρίου, *in vitro* και *in vivo*, οι ερευνητές είτε χρησιμοποιούν χημικώς συντεθειμένα, miRNAs,

δίκλινα RNAs που μιμούνται ώριμα ενδογενή miRNAs, ή συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια αντι-miRNAs (γνωστά και ως AMO, Anti-MicroRNAs Oligonucleotids) που είναι συμπληρωματικά σε ένα ώριμο miRNA, όπως και μικρών παρεμβαλλόμενων RNAs (siRNAs, small interfering RNAs), μικρών RNA φουρκέτας (shRNA, short hairpin RNAs), ASO αντι-miRNAs (Antisense Oligonucleotids antimirs), μιμητικών miRNAs, σφουγγαριών miRNAs (miRNA sponges), κυκλικών RNA (circRNAs, circular RNAs), ακόμα και την τεχνολογία του CRISPR–Cas9-based gene editing έχουν αναπτυχθεί (Ling et al., 2013; Rupaimoole & Slack, 2017; Slack & Chinnaiyan, 2019). Το CRISPR/Cas9 σύστημα είναι ένα κληρονομικό προσαρμοστικό αντιικό ανοσοποιητικό σύστημα των προκαρυωτικών κυττάρων που στοχεύει εισβάλλοντες μολυσματικούς ιούς και βακτηριοφάγους και χρησιμοποιεί καθοδηγούμενες από RNA νουκλεάσες για να κόψει ξένα γενετικά συστατικά.

Γενικά, ο απώτερος στόχος της θεραπείας του καρκίνου είναι να περιορίσει την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου, και συγκεκριμένα, διορθώνοντας μεταλλάξεις και αποκαθιστώντας την έκφραση δυσρυθμισμένων γονιδίων. Το σύστημα διόρθωσης γονιδίων CRISPR/Cas9 έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βασική έρευνα του καρκίνου και έχει επιτευχθεί κάποια ενθαρρυντική πρόοδος.

Επί του παρόντος, 11 θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση το RNA έχουν εγκριθεί από τον FDA και/ή τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA, European Medicines Agency), με στόχο τις γονιδιακές τροποποιήσεις στο ήπαρ, τους μυς ή το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Β' ΜΕΡΟΣ: Σκοπός της Εργασίας

Δεδομένης της διαρκώς αυξανόμενης επίπτωσης του καρκίνου του ενδομήτριου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αλλά και σε νεότερες ηλικίες τις τελευταίες δεκαετίες, γίνεται όλο και πιο επιτακτική η ανάγκη νέων και ακριβέστερων διαγνωστικών δεικτών αλλά και ισχυρών θεραπευτικών μορίων. Τα miRNAs φαίνονται τα τελευταία χρόνια να είναι πολλά υποσχόμενα μόρια στους προαναφερθέντες τομείς σε διάφορους τύπους καρκίνων.

Η παρούσα διπλωματική εργασία σκοπό έχει να αποσαφηνίσει το γενικότερο ρόλο των miRNAs στον καρκίνο του ενδομήτριου. Θα αναλυθεί η χρήση τους στην έγκαιρη διάγνωση, στην ακριβέστερη πρόγνωση και του προσδόκιμου επιβίωσης καθώς και πιθανές κλινικές εφαρμογές τους σε καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Υλικά και Μέθοδοι

Η βιβλιογραφική αναζήτηση για την έκφραση miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τις ακόλουθες διεθνείς βάσεις δεδομένων:

- MEDLINE, PubMed (η διαδικτυακή πύλη της Εθνικής Βιβλιοθήκης της Ιατρικής)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>,
- Google Scholar (<https://scholar.google.com/intl/en/scholar/about.html>)
και Scopus (<https://www.elsevier.com/solutions/scopus>)

Πληθυσμιακά και επιδημιολογικά δεδομένα ανασύρθηκαν και αναλύθηκαν μέσω:

- της πλατφόρμας Cancer Stat Facts του NIH (<https://seer.cancer.gov/statfacts/>),
- της πλατφόρμας του American Cancer Society (<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/about/key-statistics.html>),
- του ASCO cancer net (<https://www.cancer.net/cancer-types/uterine-cancer/statistics>) και
- της πλατφόρμας Cancer research UK (<https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/uterine-cancer>).

Αυτές αποτελούν μια συλλογή στατιστικών περιλήψεων για έναν αριθμό κοινών τύπων καρκίνου. Αναπτύχθηκαν για να παρέχουν μια γρήγορη επισκόπηση των στατιστικών για τον καρκίνο που συχνά ζητούνται. Οι διαθέσιμες στατιστικές τους περιλαμβάνουν επίπτωση, θνησιμότητα,

στάδιο, επιπολασμό και επιβίωση και είναι κατάλληλες για διασταύρωση στατιστικών στοιχείων σε διάφορους πληθυσμούς.

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε η βιβλιοθήκη Cochrane, βάσεις δεδομένων Cochrane «Cochrane Reviews» και «Clinical Trials.gov». Πρόσθετα, χρησιμοποιήθηκε η βάση κεντρικής δήλωσης των τυχαιοποιημένων μελετών (Cochrane Central Register of Controlled Trials) που αποδελτιώνει τις περιλήψεις τυχαιοποιημένων μελετών που είτε έχουν ήδη αποδελτιωθεί στην Medline και στην Embase ή δεν έχουν αποδελτιωθεί σε καμία άλλη βάση δεδομένων. Οι μελέτες αυτές βρέθηκαν επίσης στην PubMed και καταγράφηκαν από εκεί ως παραπομπή.

Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι όροι: microRNA, miRNAs, καρκίνος του ενδομητρίου, πρόγνωση, διάγνωση, θεραπευτική προσέγγιση, εξωσώματα, μοριακό προφίλ και ιστολογικά μοτίβα του καρκίνου του ενδομητρίου.

Η αναζήτηση στη βάση δεδομένων συμπληρώθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας πρωτότυπα άρθρα, κριτικές και μετα-αναλύσεις, συμπεριλαμβανομένων και διπλωματικών εργασιών. Συμπεριελήφθησαν μόνο άρθρα που δημοσιεύονται στα αγγλικά. Η βιβλιογραφία που χρησιμοποιήθηκε δημοσιεύτηκε από το έτος 2008 έως σήμερα με κάποιες αναφορές αφορούσες σε ιστορική αναδρομή να είναι και προγενέστερες.

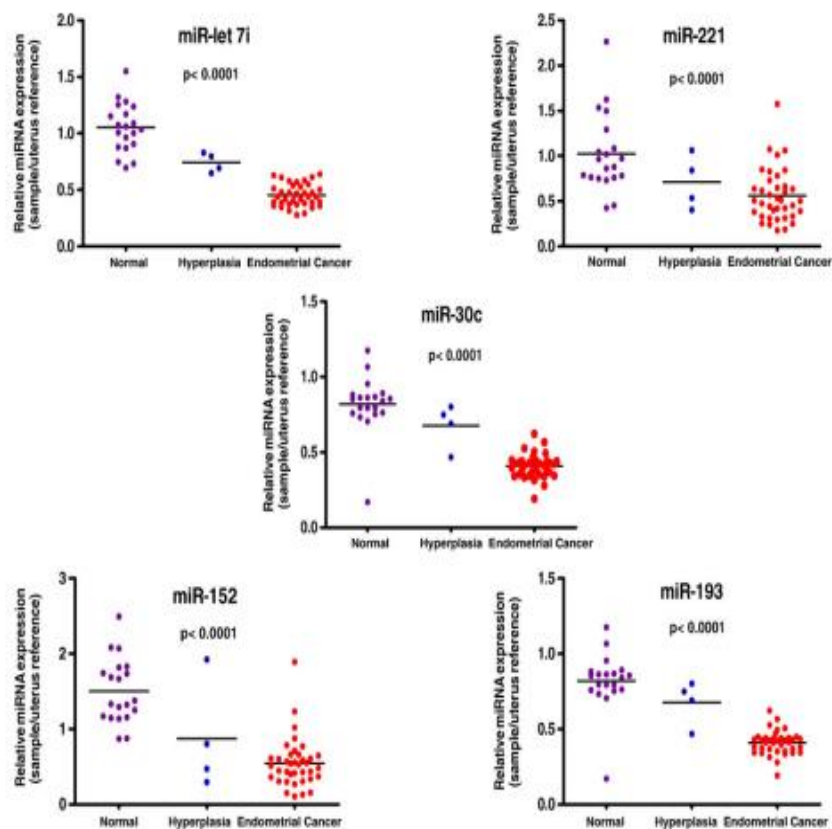
Τα miRNAs ταξινομήθηκαν και παρουσιάστηκαν ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασής τους στους καρκινικούς ιστούς. Όπου λεπτομερής αναφορά για κάποιο miRNA θεωρήθηκε αναγκαία, χρησιμοποιήθηκε η βάση miRbase για καλύτερη κατανόηση (<https://www.mirbase.org/>).

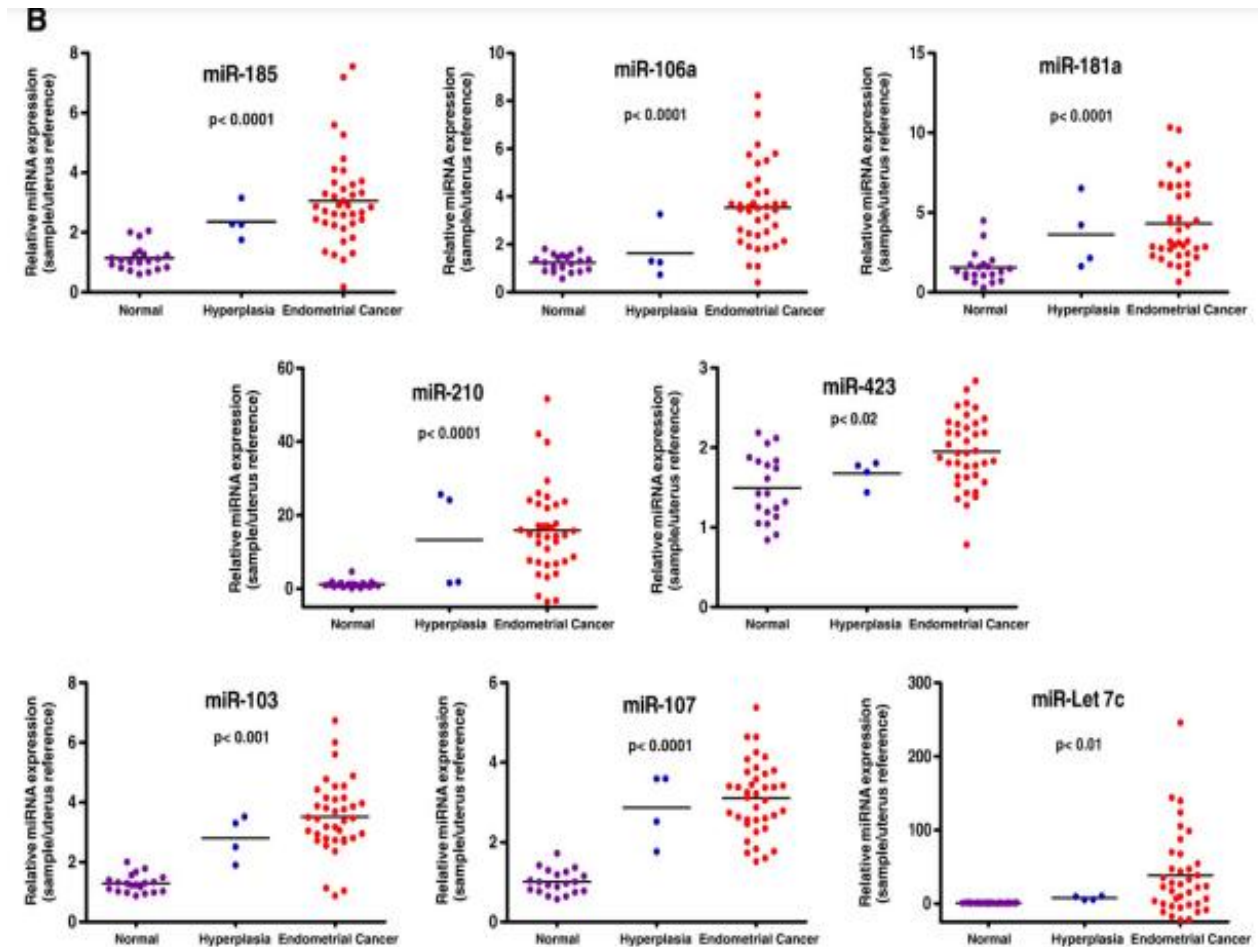
Αποτελέσματα

Στον καρκίνο του ενδομητρίου, ήδη από το 2008 και 2009 είναι γνωστό ότι κάποια miRNAs συμπεριλαμβανομένων των miR-185, miR-106a, miR-181a, miR-210, miR-423, miR-103, miR-107, miR-let7c, miR-205, miR-449, miR-221 και miR-429 είχαν βρεθεί αυξορρυθμισμένα και εμπλεκόμενα στην ογκογένεση, σε μοριακά συμβάντα διήθησης αλλά και κατά τη μετάσταση (Boren et al., 2008; Chung et al., 2009; Wu et al., 2009) (εικ. 30). Το miR-7 βρέθηκε επίσης αυξορρυθμισμένο. Η διήθηση και η μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων φαίνεται να αναστέλλεται από τη μειορρύθμιση του miR-7 χρησιμοποιώντας ένα anti-miRNA αντίσωμα (Chung et al., 2012). Μια άλλη ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι ότι στο ενδομητριοειδές αδenoκαρκίνωμα, η αυξορρύθμιση της έκφρασης του miR-27 είναι εξαρτώμενη από το χειρουργικό στάδιο. Το miR-27

συμβάλλει στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων μέσω της προκύψασας μειωμένης έκφρασης του FOXO1, ενός γονιδίου στόχου του miR-27 που αναστέλλει την απόπτωση (Mozos et al., 2014). Το 2013, ο Dai και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι η υπερέκφραση του miR-200b σε κυτταρικές σειρές αδενοκαρκινώματος οδηγεί σε παρεμπόδιση έκφρασης αναστολέα της μεταλλοπρωτεΐνάσης, TIMP2 και ταυτόχρονη αύξηση του επιπέδου της μεταλλοπρωτεΐνάσης (MMP2) υποδεικνύοντας ότι το miR-200b εμπλέκεται σε διαδικασίες που ευνοούν τη μετάσταση. Έξι miRNAs εμφανίζουν συγκεκριμένα πρότυπα έκφρασης στο αδενοκαρκίνωμα, συμπεριλαμβανομένου του miR-34b, το οποίο είναι μεθυλιωμένο στην περιοχή του εκκινητή (primer) στο αδενοκαρκίνωμα και εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και στη διήθηση (Hiroki et al., 2012).

A





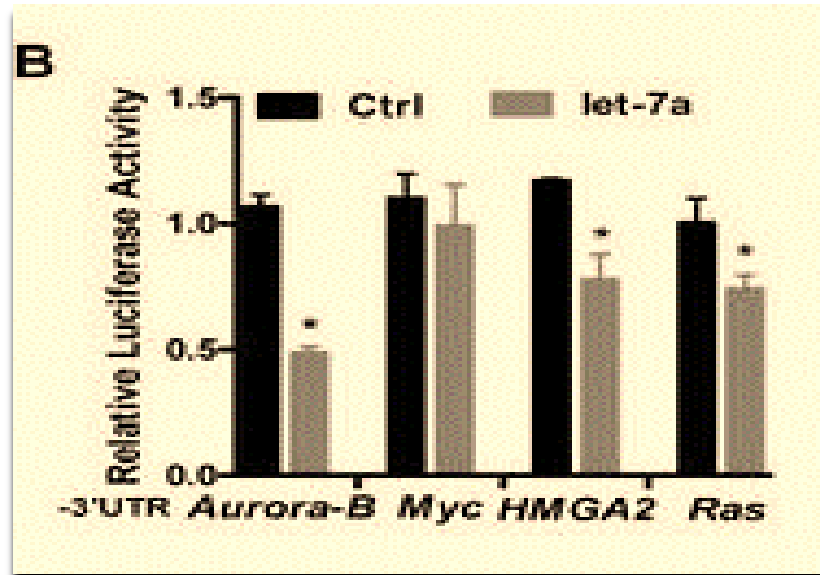
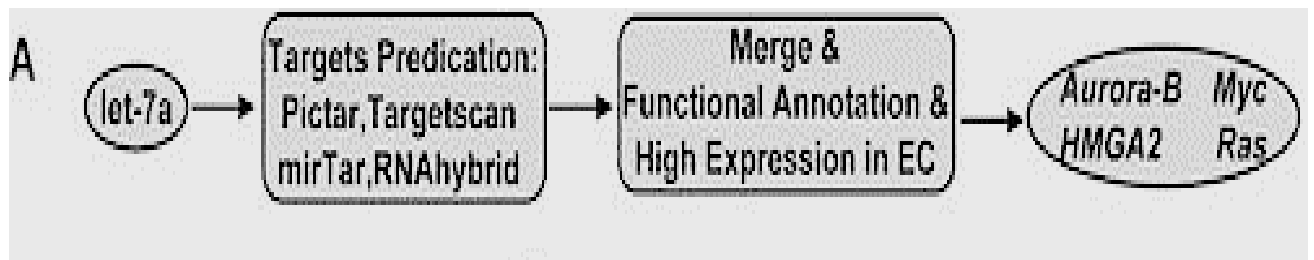
Εικόνα 30. Έκφραση των miRNAs που μετρήθηκε με την ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο (real time qPCR) σε καρκίνο του ενδομητρίου, υπερπλασία του ενδομητρίου και φυσιολογικό ενδομήτριο (Boren et al., 2008).

Αντιθέτως, πολλαπλά miRNAs συμπεριλαμβανομένου του miR-let7e, miR-30c, miR-221, miR-152, miR-193, miR-204, miR-99b και miR-193b είναι μειορρυθμισμένα στον καρκίνο του ενδομητρίου (Boren et al., 2008; Chung et al., 2009; Wu et al., 2009). Αυτά τα miRNAs καταστέλλουν την ογκογένεση, το διηθητικό δυναμικό των κυττάρων και τη μετάσταση, και αυτά τα φαινόμενα επάγονται από τη μειωμένη ρύθμιση των miRNAs.

Τα miRNAs τεκμηριωμένα εμπλέκοντα στη μεθυλίωση του DNA κατά στα στάδια της εξέλιξης του καρκίνου του ενδομητρίου. Επί παραδείγματι, στην περίπτωση που η έκφραση του miR-129-2 ενισχύεται από επιγενετικούς μηχανισμούς των mRNA-στόχων συμπεριλαμβανομένης της απομεθυλίωσης του DNA και της ακετυλίωσης της ιστόνης, η έκφραση του SRY {(related high-mobility group box 4 (SOX4)) καταστέλλεται και σαν άμεσο επακόλουθο η ανάπτυξη του καρκίνου παρεμποδίζεται. Στον καρκίνο του ενδομητρίου, αυτός ο μηχανισμός αποτυγχάνει και το SOX4 υπερεκφράζεται (Huang et al., 2009). Το miR-129-2 σχετίζεται με φαινόμενα μικροδο-

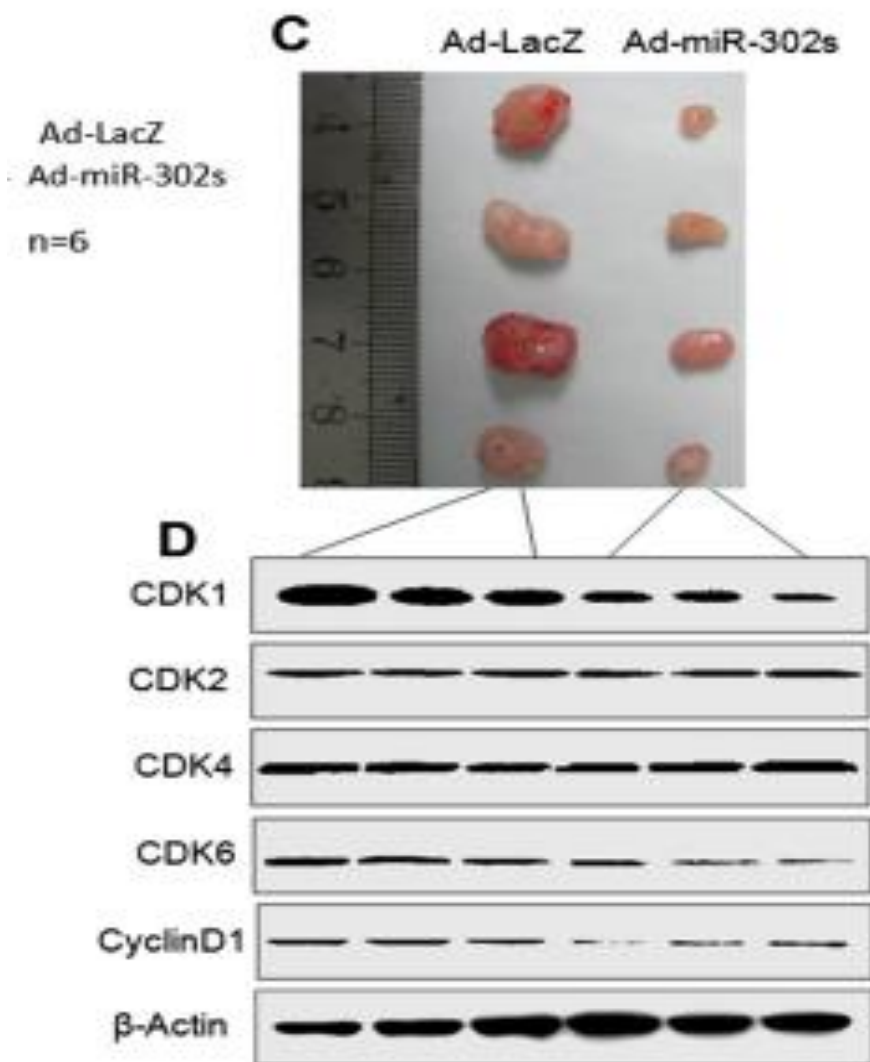
ρυφορικής αστάθειας, μεθυλίωσης του ανθρώπινου μεταλλαγμένου L ομόλογου 1 (hMLH1) και με DNA γονίδια επιδιόρθωσης βλαβών (MMR) που εμπλέκονται στην εξέλιξη του καρκίνου του ενδομητρίου τύπου I. Το hMLH1 συχνά μεθυλιώνεται στους καρκινικούς ιστούς ενδομητρίου και μπορεί να προκαλέσει μετάλλαξη γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένων, του ανθρώπινου μεταλλαγμένου S ομόλογου 6 (hMSH6), τύπου 2 μετασχηματιστικού παράγοντα-βήτα ανάπτυξης (Transforming Growth Factor,) TGF- β 2), Bcl2-σχετιζόμενη πρωτεΐνη X (BAX) και PTEN (Banno et al., 2012). Εκτός από το miR-129-2, το miR-203 ρυθμίζει επίσης το SOX4 και η μεθυλίωση αυτών των miRNAs μπορεί να οδηγήσουν σε ανάπτυξη του καρκίνου του ενδομητρίου (Huang et al., 2009). Η έκφραση του miR152 ρυθμίζεται από μεθυλίωση και μειορρυθμίζεται στον καρκίνο του ενδομητρίου. Το miR152 αναστέλλει την έκφραση στόχων συμπεριλαμβανομένης της μεθυλο-τρανσφεράσης του DNA (DNMT1), του E2F3, του met πρωτοογκογονιδίου (MET) και του mTOR (Rictor), τα οποία εμπλέκονται στην ογκογένεση (Tsuruta et al., 2011). Έτσι, το miR-152 για στοχευμένη θεραπεία αλλά και ως βιοδείκτης φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενο (Tsuruta et al., 2011).

Ένα άλλο καλά μελετημένο miRNA είναι το miR-106b το οποίο φαίνεται να αναστέλλει την EMT. Τα κύτταρα φαίνεται να αυξάνουν το μεταστατικό τους δυναμικό με τη μειορύθμιση του miR106b. Ο Liu και οι συνεργάτες του ανέδειξαν και το let-7a. Το miRNA αυτό αναστέλλει το Aurora-B και μειώνει τα επίπεδα της πρωτεΐνης Aurora-B, με αποτέλεσμα την αναστολή της εμφάνισης καρκίνου του ενδομήτρου (εικ.31) (Liu et al., 2013).



Εικόνα 31. Η *Aurora-B* είναι στόχος του *let-7a* σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του ενδομητρίου. (A) Η ροή της πρόβλεψης του *let-7a*. (B) Οι *Let-7a* μιμητικές αλληλουχίες ή το RNA (*Ctrl*) ελέγχου είχαν ταυτόχρονη εμφάνιση ξένου DNA (*co-transfection*) με την 3'UTR 4 γονιδίων (*Aurora-B*, *Myc*, *HMGA2* και *Ras*) και *pRL-TK* σε κύτταρα 293T. Η δραστηριότητα της λουσιφεράσης προσδιορίστηκε 24 ώρες μετά την είσοδο του ξένου DNA (*transfection*)
 Πηγή: (Liu et al., 2013).

Το miR-30c δρα άμεσα στο γονίδιο σχετιζόμενο με τις μεταστάσεις (MTA1). Το miR-30c αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στο ενδομήτριο μέσω ρύθμισης του MTA1 και συνεπώς μειορρύθμιση του miR30c μπορεί να εμπλέκεται στον τύπο I και καρκίνο του ενδομητρίου (Xie et al., 2011; Zhou et al., 2012). Ένας τρόπος μειορρύθμισής του είναι και μέσω του οιστρογονικού υποδοχέα της οιστραδιόλης σε (ER) θετικά Ishikawa και ER αρνητικά HEC1B κύτταρα, το οποίο δείχνει ότι τα οιστρογόνα ρυθμίζουν το miR30c στο ενδομήτριο (Kong et al., 2012). Το 2008, ο Lin και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι το miR-302 προκαλεί απομεθυλίωση του γενικού γονιδιωματικού DNA, και κατά συνέπεια ενεργοποιεί παράγοντες μεταγραφής συμπεριλαμβανομένων των Oct4, Sox2, Nanog και Lin28 (Kong et al., 2012). Το miR-302 αναστέλλει την ογκογένεση σε διάφορους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης αναστολής της κυκλίνης D1 και της έμμεσης αναστολής του CDK1 (εικ.32) (Yan et al., 2014).



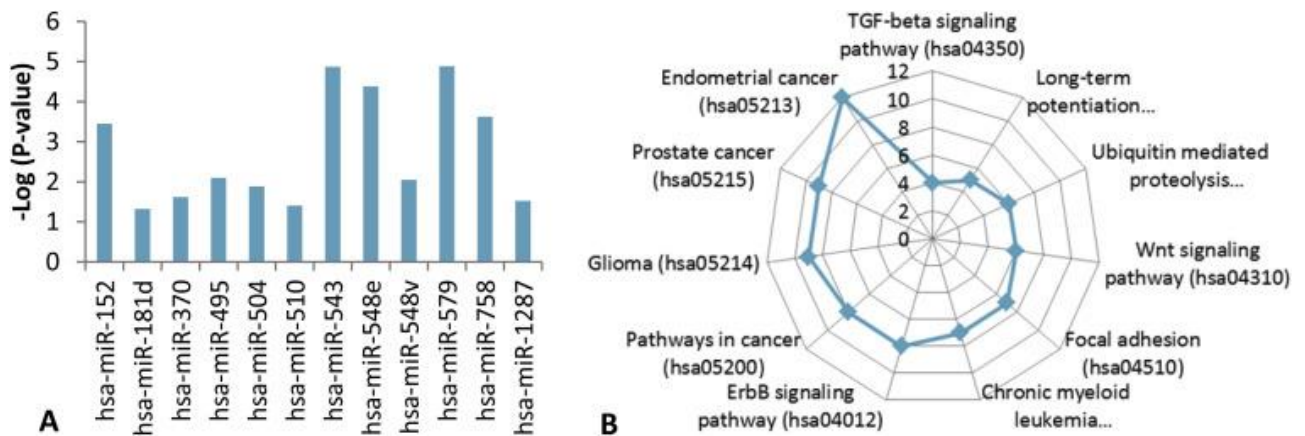
Εικόνα 32. (C) Μορφολογική αξιολόγηση μέσου μεγέθους όγκου εντός 2 εβδομάδων μετά από *in situ* ενέσεις. (D) Αναλύσεις Western blot της *in vivo* επίδρασης miR-302 στα πρότυπα έκφρασης των ρυθμιστών σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου CDK1, CDK2, CDK4/6, Cyclin D1 Πηγή: (Yan et al., 2014).

Με βάση τελευταίες έρευνες, τα miRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες πρόγνωσης και θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου. Στον καρκίνο του ενδομητρίου, μια σειρά από μελέτες εξέτασαν τα προφίλ των miRNAs χρησιμοποιώντας ιστούς χειρουργικά αφαιρούμενων όγκων ή δείγματα αίματος ασθενών με στόχο τον εντοπισμό βιοδεικτών (Srivastava et al., 2017). Ωστόσο, οι προηγούμενες μελέτες συνήθως επικεντρώνονται σε ένα ή δύο miRNAs ή και μια συγκεκριμένη ομάδα με μια ταυτόχρονη αναφορά στα γονίδια-στόχους τους με βάση τη δυνατότητά τους να ρυθμίζουν ποικίλες βιολογικές διεργασίες. Λίγες ερευνητικές εργασίες διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ ολόκληρου του προφίλ των miRNAs και των πιθανών mRNA-στόχων τους με βάση τον αντίκτυπό τους στην επιβίωση των ασθενών. Προς αυτή την κατεύθυνση ο Xu και η λοιπή ερευνητική ομάδα προσπάθησε περαιτέρω

να αξιολογήσει τις διαφορές μεταξύ υψηλών και χαμηλών ποσοστών επιπέδων έκφρασης για τα οκτώ ζεύγη miRNAs/mRNAs. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ασθενείς με χαμηλό ποσοστό έκφρασης τριών ζευγαρωμένων miRNAs/mRNAs (miR-497/EMX1, miR-23c/DMBX1, και miR-670/KCNS1) είχαν σημαντικά χειρότερη επιβίωση, ενώ οι υπόλοιποι δεν φαινόταν να διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (Xu et al., 2019).

Αυτά τα αποτελέσματα πρότειναν ότι οι ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου με χαμηλή έκφραση του miR-497 και υψηλή έκφραση του EMX1 (Empty Spiracles Homeobox 1) ήταν περισσότερο επιρρεπείς να εμφανίσουν καρκίνο σε πιο προχωρημένο στάδιο συγκριτικά με εκείνους με υψηλή έκφραση miR-497 και χαμηλή έκφραση EMX1. Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξε ότι ο καρκίνος του ενδομητρίου με χαμηλή έκφραση του miR-497 είχε χειρότερη πρόγνωση από εκείνη με υψηλή έκφραση. Εν τω μεταξύ, η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier πρότεινε ότι οι ασθενείς με υψηλή έκφραση EMX1 είχαν επίσης χειρότερη πρόγνωση από εκείνους με χαμηλή έκφραση EMX1.

Το προφίλ έκφρασης των miRNAs ελέγχθηκε αναφορικά με την κατάσταση των λεμφαδένων (lymph node status) και ανάλογα με τα ποσοστά επιβίωσης.



Εικόνα 33. Δώδεκα miRNAs μπορεί να ρυθμίζουν την πορεία του καρκίνου του ενδομητρίου. Α) Το miRNA ελέγχει επίσης αρκετά μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του προστάτη, του γλοιώματος και της λευχαιμίας. Β) Τα miRNAs έχουν τη μεγαλύτερη συσχέτιση με το μονοπάτι του καρκίνου του ενδομητρίου Πηγή: (Widodo et al., 2016).

Οι μελέτες που αναλύθηκαν περιλάμβαναν κατά μέσο όρο 11 δείγματα με θετικούς λεμφαδένες (ελάχιστο 2, μέγιστο 29) και 42 δείγματα με αρνητικούς λεμφαδένες (13, μέγιστο 121). Οκτώ μελέτες περιλάμβαναν μόνο ιστολογικούς τύπους. Η θετικότητα των λεμφαδένων συσχετίστηκε με αυξημένη έκφραση των miR -10a, miR-10b, miR-26a, miR-26a1, miR- 34α, miR-

95, miR-123, miR-125b1, miR-125b2, miR-133a, miR-143, miR-145a, miR-181a, miR-200a, miR-203, miR-222-3p, και miR-429, ενώ ταυτόχρονα συσχετίστηκε με τη μειωμένη έκφραση του miR-24b-5p, miR-34c miR-3p, miR-34c miR-5p, miR-184, miR-204-5p, και miR-375. 14 άρθρα που περιέγραφαν λεπτομερώς το πρότυπο έκφρασης των miRNAs στους καρκινικούς ιστούς του ενδομήτριου σε εξάρτηση με τη συνολική επιβίωση ή απουσία υποτροπής, ενώ 5 μελέτες συμπεριέλαβαν μόνο ενδομητριοειδές καρκίνωμα (Widodo et al., 2016) (εικ.33).

Η απομόνωση του RNA κυρίως πραγματοποιήθηκε από εγκλεισμένο ιστό σε παραφίνη.

Σημαντική βελτίωση της συνολικής επιβίωσης σχετίζεται με τις ακόλουθες αλλαγές της έκφρασης:

1) **Αυξημένη έκφραση** των miR -10b, miR -29b, miR -100, miR -101, miR -129-2, miR -130b, miR -139-5p, miR -152, miR -183-5p, miR -194, miR -199a -5p, miR -202 και miR -455-5p.

2) **Μειωμένη έκφραση** των miR -200c, miR -205, miR -429 και miR -1228 και της συνδυασμένης έκφρασης έξι miRs (miR-15a, miR-142-3p, hsa-miR-142-5P, miR-3170, miR-1976, miR-146a).

Επιπρόσθετα, σημαντική βελτίωση της επιβίωσης χωρίς υποτροπές συνδέθηκε με τα ακόλουθα:

1) **Αυξημένη έκφραση** των miR -29b, miR -152, miR -199a -5p, και miR -455-5p.

2) **Μειωμένη έκφραση** των miR -429 και miR -1228 (Delangle et al., 2019).

Ο Valadi και οι συνεργάτες του ανέφεραν την παρουσία των εξωκυττάρων miRNAs σε εξωσώματα (Valadi et al., 2007). Τα εξωσώματα είναι εξωκυτταρικά κυστίδια και αποτελούν φορείς των miRNAs που απελευθερώνονται από τα κύτταρα στο αίμα.

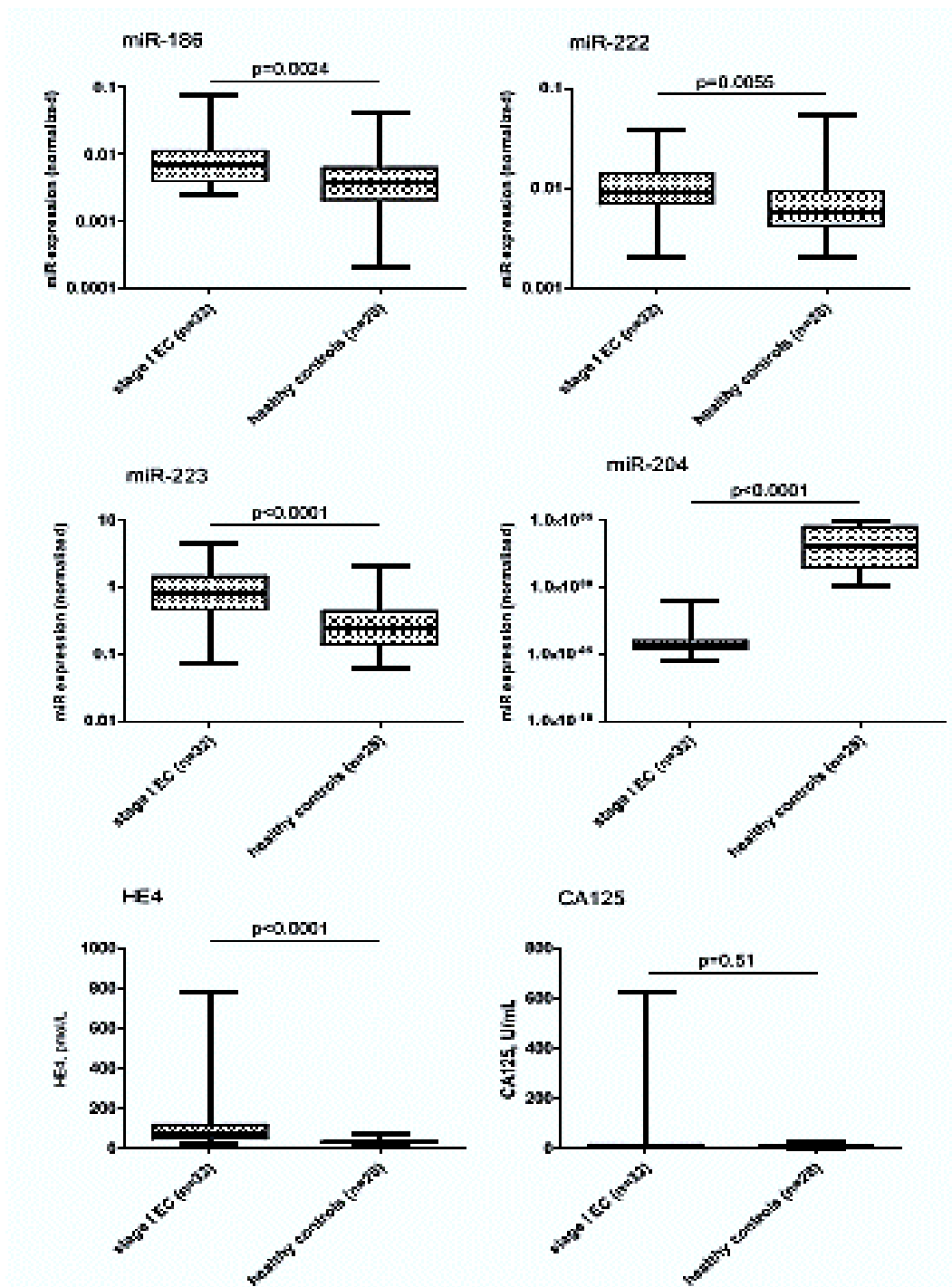
Καταβολικά ένζυμα για τα miRNAs απαντώνται στον ορό, παρότι αρχικά υπήρξε η εσφαλμένη εντύπωση ότι τα miRNAs δεν θα μπορούσαν να υπάρξουν στο αίμα. Ωστόσο, η σταθερότητα των miRNAs αυξάνεται στα εξωσώματα (Chim et al., 2008; Gilad et al., 2008). Τα εξωσώματα που απελευθερώνονται από καρκινικά κύτταρα μπορεί να έχουν σχέση με μηχανισμούς που περιλαμβάνουν ανοσοκαταστολή, αντοχή στα φάρμακα και αγγειογένεση. Έτσι, τα miRNAs στα εξωσώματα αντανακλούν χαρακτηριστικά των κυττάρων και φαίνεται ότι υπερεκφρασμένα miRNAs στον καρκίνο, περιλαμβάνονται στα εξωσώματα και απελευθερώνονται.

Το 2008, ο Lawrie και οι συνεργάτες του περιέγραψαν για πρώτη φορά, τα miRNAs ως αποτελεσματικούς βιοδείκτες για τον καρκίνο (Lawrie et al., 2008). Αρκετά miRNAs έχουν συγκεκριμένο προφίλ έκφρασης και από την ανάλυση τους μπορεί να γίνει πιο σωστή ταξινόμηση σε σχέση με αυτή που προκύπτει από την ανάλυση ακόμα και 20.000 microRNAs (Lu et al., 2005). Οι περισσότεροι ασθενείς με καρκίνο του ενδομήτριου διαγιγνώσκονται σε ένα πρώιμο κλινικό στάδιο. Ωστόσο, η 5ετής επιβίωση των ασθενών στους οποίους ανιχνεύτηκε καρκίνος

του ενδομήτριου σε προχωρημένο στάδιο είναι χαμηλή και κυμαίνεται από 10 % έως 29%. Επομένως, οι ερευνητές κατέληξαν ότι απαιτείται η ανάπτυξη ενός συγκεκριμένου δείκτη για έγκαιρη ανίχνευση ενδομητριοειδούς αδενοκαρκινώματος (Bansal et al., 2009).

Για παράδειγμα, ο Tan και οι συνεργάτες του, το 2010, διαπίστωσαν ότι η αυξορρύθμιση του miR-155 σχετίζεται με το στάδιο του καρκίνου και τις λεμφαδενικές μεταστάσεις σε μελέτη του miR-155 σε ορό που είχε στόχο την ανίχνευση διαφορών στην έκφραση του miRNA μεταξύ ενδομητριοειδούς αδενοκαρκινώματος, φυσιολογικού ενδομήτριου και άλλων ιστολογικών τύπων (Tan et al., 2010).

Ο Torres και η ομάδα του, το 2012, βρήκε ότι η έκφραση του miR-99a, του miR-100 και του miR-199b αυξορρυθμίστηκε στον ορρό σε ασθενείς με ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα, και κατέδειξε ότι ένας συνδυασμός miR-99a και miR-199b είχε υψηλότερη διαγνωστική αξία από κάθε miRNA μόνο του. Ανάλυση miRNAs στον ορρό σε μια μελέτη σε όλο το γονιδίωμα υπέδειξε ότι ένας συνδυασμός τεσσάρων miRNAs, όπως το miR-222, το miR-223, το miR-186 και το miR-204, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση του ενδομητριοειδούς αδενοκαρκινώματος με καλή ειδικότητα. Χρήση αυτού του συνδυασμού για τη διάγνωση έδωσε μια περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC 0,927, η οποία ήταν υψηλότερη από αυτή για τον τρέχων δείκτη, CA-125 (0,673) (εικ.34) (Montagnana et al., 2017).



Εικόνα 34. Έκφραση των miRNAs (ρυθμισμένη με το miR-16) και συγκεντρώσεις HE4 (Human Epididymis protein 2) και CA125 σε ασθενείς σταδίου I (Montagnana et al., 2017).

Έπειτα, με την τεχνολογία της επόμενης γενιάς αλληλούχισης (NGS, New Generation Sequence) εντοπίστηκαν 11 υποψήφια miRNAs που σχετίζονται με το ενδομητριοειδές καρκίνωμα του ενδομητρίου. Η ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου εντόπισε 8 σχετιζόμενα miRNAs στο εν-

δομήτριο (αυξημένη ρύθμιση: miR-499, miR-135b, miR-205, μειωμένη ρύθμιση: miR-10b, miR-195, miR-30a-5p, miR-30a-3p και miR-21).

Ο καρκίνος του ενδομήτριου σε κάποιους υποτύπους έχει δύσκολη διάγνωση επειδή είναι δυνατόν να περιλαμβάνει de novo ογκογένεση μην εμφανίζοντας πάντα προκαρκινική βλάβη. Ωστόσο, αρκετά miRNAs συμπεριλαμβανομένου του miR-125b μπορεί να είναι χρήσιμα για τη διάγνωση. Η έκφραση του miR-125b στον τύπο II του καρκίνου του ενδομήτριου φαίνεται να είναι ιδιαίτερα αυξημένη συγκριτικά με τον τύπο I. Η επαγωγίμη πυρηνική ογκο-πρωτεΐνη p53 (TP53INP1) μπορεί να σχετίζεται με τον καρκίνο του ενδομητρίου τύπου II επειδή τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται όταν διαταράσσεται η ρύθμιση αυτού του γονιδίου (Jiang et al., 2011). Εκτός του TP53INP1, το ομόλογο ιικό ογκογονίδιο 2 της ερυθροβλαστικής λευχαιμίας V-erb-b2 (ERBB2), αποτελεί τον δεύτερο άμεσο στόχο του miR-125b σχετιζόμενο επίσης με τη διήθηση των καρκινικών κυττάρων (Shang et al., 2012).

Το miR-194 μπορεί επίσης να αποτελέσει έναν καλό βιοδείκτη για την διάγνωση αυτού του τύπου καρκίνου. Το συγκεκριμένο miRNA μειώνεται σημαντικά στον καρκίνο του ενδομήτριου και αυτή η μείωση συσχετίζεται με το στάδιο του καρκίνου και την πρόγνωση των ασθενών (Zhai et al., 2013). Πιο συγκεκριμένα, το miR-194 συσχετίζεται αντιστρόφως με την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων και θεωρείται ότι το επίπεδο έκφρασης του miR-194 μπορεί να επηρεάσει την επιβίωση των ασθενών με αυτόν τον τύπο καρκίνου. Χορήγηση pre-miRNA έδειξε ότι το miR-194 στοχεύει στο ογκογόνο BMI1 και αναστέλλει τον φαινότυπο EMT και το διηθητικό δυναμικό των κυττάρων (Dong et al., 2011).

Πρόσφατα έγινε μία εκτεταμένη ανασκόπηση σχετικά με τη ρύθμιση της πολλαπλής σηματοδότησης της EMT από miRNAs, συμπεριλαμβανομένης της σηματοδότησης Μετασχηματισμού Αυξητικού Παράγοντα β (TGF-β)/SMAD, των μονοπατιών Wnt και PI3K/AKT, και συντονίζεται από το Snail, Slug, Smug, SRY-Box Transcription Factor 1 (SOX1), Forkhead Box C1 (FOXC1), Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1/Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2 (ZEB1/ZEB2) και πρωτεΐνη 1/Twist (TWIST1/TWIST2).

Εντοπίστηκαν 20 αναστολείς αυτής της διαδικασίας σε κύτταρα καρκίνου του ενδομήτριου (miR-20a-5p, miR-26a, miR-34a, miR-101, miR-106b, miR-124, miR-130b, miR-183-5p, miR-194, miR-195, miR-199a/b-5p, miR-200c, miR-202, miR-214-3p, miR-320a, miR-326, miR-340-5p, miR-365, miR-424 και miR-513) και επτά onco-miRNAs που διεγείρουν τη μετάβαση των κυττάρων σε EMT (miR-93, miR-130b, miR183, miR-200a, miR-200c, miR-205 και miR-301b).

Οι έρευνες εκτός από τον καρκίνο του ενδομήτριου έχουν επεκταθεί και προς την ενδομητρίωση. Η ενδομητρίωση είναι μία από τις προκαρκινικές αλλοιώσεις που αποτελεί στόχο για έγκαιρη διάγνωση και πρώιμη παρέμβαση. Συνδυασμός του miR-199a και του miR-542-3p μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση της ενδομητρίωσης με ευαισθησία 96,61 % και ειδικότητα 79,66 %, και αυτή η προσέγγιση μπορεί να χρησιμεύσει ως μη επεμβατικός δείκτης στην πράξη (Yu et al., 2012).

Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει το MYLK (myosin light chain kinase) το οποίο είναι ένα ένζυμο που συμμετέχει σε διαδικασίες που σχετίζονται με την ενεργοποίηση της μυοσίνης, όπως η κυτταρική προσκόλληση, η διαίρεση, η μετανάστευση και η εισβολή και προάγει την εξέλιξη και τη μετάσταση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και του καρκίνου του στομάχου. Η δραστηριότητα του MYLK μπορεί να ρυθμιστεί από τα miR-200c και miR-155. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν ως μέρος αυτής της εργασίας έδειξαν απορρύθμιση του πολλαπλασιασμού στον καρκίνο του ενδομήτριου, ο οποίος μπορεί να σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα MYLK (Hermyt et al., 2019). Τα επίπεδα των miR-200a, miR-200c και miR-155, που πιθανώς εμπλέκονται στη ρύθμιση της δραστηριότητας του MYLK, ήταν αυξημένα στον καρκίνο του ενδομήτριου. Η υπερέκφρασή τους μπορεί να προάγει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, ο οποίος μπορεί να σχετίζεται με την εξέλιξη του όγκου.

Η Ομάδα Εργασίας Γυναικολογικής Ογκολογίας εντός του RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) πραγματοποιεί κλινικές δοκιμές με στόχο τη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης και τη μείωση της νοσηρότητας σε γυναίκες με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ή του ενδομήτριου. Οι κυριότερες συνιστώσες των μελετών περιλαμβάνουν υπερβαρικό οξυγόνο, ακτινοθεραπεία νετρονίων, τροποποιημένη κλασματοποίηση, ευαισθητοποίηση υποξικών κυττάρων, χημειοευαισθητοποίηση και ακτινοθεραπεία κατευθυνόμενη κατά του όγκου.

Μία από τις δοκιμές RTOG περιελάμβανε τη διερεύνηση ενός λειτουργικού variant της βλαστικής σειράς στο 3' UTR του KRAS που οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του ενδομήτριου, καθώς και τη συσχέτιση miRNA υπογραφών και του KRAS variant (KRAS παραλλαγή) με κλινικά χαρακτηριστικά και αποτελέσματα των καμπύλων επιβίωσης σε δύο προοπτικές RTOG κλινικές δοκιμές του καρκίνου του ενδομήτριου (Lee et al., 2014). Η συσχέτιση της παραλλαγής KRAS με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ενδομήτριου αξιολογήθηκε με ανάλυση ελέγχου 467 περιστατικών γυναικών με καρκίνο ενδομήτριου τύπου I ή II και 582 ελέγχους ηλικίας. Τα miRNAs και τα DNAs απομονώθηκαν για την ανάλυση του προφίλ έκφρασης και του γονοτύπου από δείγματα όγκων 46 γυναικών με καρκίνο ενδομήτριου τύπου I που συμμετείχαν σε δοκιμές

RTOG 9708 και 9905. Τα επίπεδα έκφρασης των miRNAs και ο γονότυπος της παραλλαγής KRAS συσχετίστηκαν με τα χαρακτηριστικά του ασθενούς και του όγκου και αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα επιβίωσης ανάλογα με τον τύπο αλληλομόρφων.

Προέκυψε από τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ότι η παραλλαγή KRAS δεν συσχετίστηκε σημαντικά με τον συνολικό κίνδυνο καρκίνου του ενδομήτριου (14% control group) χωρίς νόσο και 17% καρκίνοι τύπου I), μπορεί όμως να αποτελέσει γενετικό δείκτη κινδύνου για τον καρκίνο του ενδομήτριου τύπου II (24%, $p = 0,2$). Στη συνδυασμένη ανάλυση του RTOG 9708/9905, η έκφραση των miRNAs στον καρκίνο διέφερε ως προς την ηλικία, ως προς την παρουσία λεμφαγγειακής διήθησης και ως προς την ύπαρξη της παραλλαγής KRAS, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι η τροποποιημένη βιολογία του όγκου μπορεί να «μετρηθεί» με έκφραση miRNAs και ότι η παραλλαγή KRAS πιθανώς επηρεάζει τη βιολογία του καρκίνου του ενδομητρίου (Lee et al., 2014). Επιπρόσθετα, μία νέα κλινική δοκιμή για ασθενείς με αυτόν τον τύπο καρκίνου λαμβάνει χώρα με σπόνσορα την IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna με όνομα MIRCE.

Το TCGA project (The Cancer Genome Atlas) εντόπισε τέσσερις διακριτές ομάδες καρκίνου του ενδομητρίου με βάση τις μοριακές αλλοιώσεις:

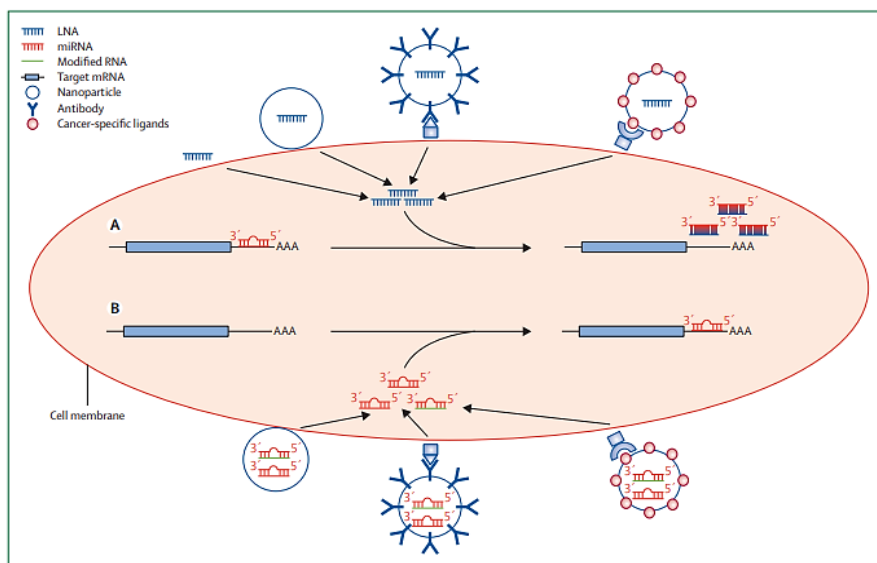
- (i) τον υπερμεταλλαγμένο υποτύπο που περιλαμβάνει περιπτώσεις μετάλλαξης POLE
{(Polymerase Proofreading-Associated Polyposis (PPAP))}.
- (ii) τον υπερμεταλλαγμένο υπότυπο, που χαρακτηρίζεται από ανεπάρκεια επιδιόρθωσης MisMatch (MMRd).
- (iii) τον υπότυπο με υψηλό αριθμό αντιγράφων, με μη φυσιολογικό/μεταλλαγμένο p53 (p53abn) και
- (iv) τον υπότυπο χαμηλού αριθμού αντιγράφων, γνωστό ως NSMP (Non Specific Molecular Profile). Οι καρκίνοι παρουσιάζουν μεγάλη μεταβλητότητα στις μοριακές αλλοιώσεις και τη βιολογική επιθετικότητα. Δεδομένου ότι η μελέτη στοχεύει στην αξιολόγηση του προφίλ έκφρασης των miRNAs για τον εντοπισμό νέων πιθανών βιοδεικτών για την καλύτερη ταξινόμηση των ασθενών, λαμβάνει υπόψη το μοριακό προφίλ. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04845425>).

Μελέτες σχετικές με miRNAs έχουν αποκαλύψει λεπτομερείς μηχανισμούς φαρμάκων. Φάρμακα όπως η μπορτεζομίμη (bortezomib), γνωστός αναστολέας της ουβικουιτινοεξαρτώμενης πρωτεόλυσης που αποδεδειγμένα θανατώνουν τα καρκινικά κύτταρα σε in vitro

διαδικασίες και σε ζωικά μοντέλα είναι πολλά υποσχόμενα στην επιστημονική μας φαρέτρα. Αυτό το φάρμακο μπλοκάρει τη δραστηριότητα του πρωτεασώματος (μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλεγμα), σταματάει τα κύτταρα στη φάση G2/M, προκαλεί απόπτωση και αναστέλλει την ανάπτυξη καρκίνου του ενδομήτριου. Η δράση του miR-17-5p στο p21 αύξησε την αποτελεσματικότητα της μπορτεζομίμπης μέσω ενός νέου μηχανισμού που περιλαμβάνει διαμεσολαβούμενη από μπορτεζομίμπη μετα-μεταγραφική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (Shen et al., 2013). Η ερευνητική ομάδα του Hu διαπίστωσε επίσης ότι το p21 είναι άμεσος στόχος του miR17-5p στα καρκινικά κύτταρα του ενδομήτριου, έχει εκτοπική έκφραση και η σίγαση του p21 ανέτρεψαν την διαμεσολαβούμενη από μπορτεζομίμπη απόπτωση και την αναστολή πολλαπλασιασμού στα καρκινικά κύτταρα του ενδομήτριου προτείνοντας ότι το miR-17-5p ανταγωνίστηκε τα αποτελέσματα της θεραπείας με μπορτεζομίμπη στον καρκίνο του ενδομητρίου μέσω της στόχευσης του p21. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν έναν νέο μηχανισμό με τον οποίο η μπορτεζομίμπη προκαλεί απόπτωση και αναστολή ανάπτυξης (Shen et al., 2013). Λαμβάνοντας υπόψη την σημασία των miRNAs στην ογκογένεση και στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία, τα επίπεδα miRNAs στα καρκινικά κύτταρα του ενδομητρίου, μετά τη θεραπεία με μπορτεζομίμπη κατέδειξαν μια μείωση της έκφρασης του miR-17-5p. Άλλα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενίσχυση των θέσεων 13q31 – q32, όπου εδράζεται το cluster (σύμπλεγμα) του miR-17-92 (Ebi et al., 2009), είναι ένας κρίσιμος ρυθμιστής ανάπτυξης όγκου, της ανάπτυξης ανοχής στα φάρμακα και στην εξέλιξη της μετάστασης. Το miR-17-5c είναι ήδη γνωστό βιβλιογραφικά ότι λειτουργεί σαν ογκογονίδιο και συνεργάζεται με το c-Myc, ο οποίος είναι ένας ογκογονικός παράγοντας μεταγραφής δηλαδή συχνά μεταλλάσσεται ή ενισχύεται σε καρκίνους. Ένα miRNA μπορεί δυνητικά να ρυθμίσει ένα ευρύ φάσμα γονιδίων-στόχων με αποτέλεσμα έναν ισχυρό καθολικό αντίκτυπο στη γονιδιακή έκφραση. Το miR17-5p είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής του H2AX (Histone family member X) στις κυτταρικές σειρές και σε χειρουργικώς εξαιρούμενα δείγματα όγκου του μαστού και μπορεί επίσης να ανταγωνιστούν την TGFb (Transforming Growth Factor b) σηματοδότηση μέσω μετα-μεταγραφικής ρύθμισης του E2F2 και του MYC (Cazzalini et al., 2010; Dews et al., 2010; Mestdagh et al., 2010). Τα ανωτέρω ενισχύουν τον κρίσιμο ρόλο αυτού του miRNA ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση για τον καρκίνο του ενδομήτριου. Μια αξιοσημείωτη παράμετρος για τον έλεγχο των φαρμακευτικών προσεγγίσεων του καρκίνου είναι και η ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στα φάρμακα. Στον καρκίνο του ενδομητρίου η έκφραση του miR-34c, το οποίο ρυθμίζει το μεταστατικό δυναμικό, τον κυτταρικό θάνατο και τη διήθηση εμφανίζεται μειορρυθμισμένο και ένας συνδυασμός μιμητικών αλληλουχιών miR-34c με σισπλατίνη βελτίωσε την

αποτελεσματικότητα του φαρμάκου σε κυτταρικές σειρές (Uradhyaga et al., 2019). Η έκφραση των miR-200b, miR-200c και miR-429, τα οποία αναστέλλουν τον παράγοντα μεταγραφής, AP-2α, φαίνεται να είναι αρκετά αυξημένη σ' αυτόν τον τύπο καρκίνου και ο ρυθμός έκφρασης συσχετίζεται θετικά με αντοχή στη σισπλατίνη. Ωστόσο, ένας συγκεκριμένος πολυμορφισμός SNP (rs1045385A> C) μειώνει τον αντίκτυπο στον AP-2α, και η ευαισθησία στην σισπλατίνη είναι αυξημένη (Wu et al., 2011). Αυτές οι μελέτες τείνουν να βελτιώσουν την επιλογή της φαρμακευτικής αγωγής και να αυξήσουν την ευαισθησία στο φάρμακο μειώνοντας την αντίσταση.

Χορήγηση ογκοκατασταλτικού miR, όπως του miR-152, σε in vitro και in vivo μοντέλα έδωσε σημαντική καταστολή του όγκου (Tsuruta et al., 2011). Ωστόσο, αυτή η προσέγγιση είναι περισσότερο πειραματική σήμερα, ενώ η εφαρμογή της στην κλινική πράξη προοιωνίζεται στοχευμένη και πολλά υποσχόμενη. Επίσης σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι τα miRNAs φαίνεται να υπάρχουν σταθερά σε διάφορους ιστούς και δομές, και ως εκ τούτου θα πρέπει να είναι σχετικά εύκολη η μεταφορά στα κύτταρα μέσω των αιμοφόρων αγγείων (Mitchell et al., 2008). Τα νανοσωματίδια συμβάλλουν στη σταθερότητα των miRNAs (Kong et al., 2012) (εικ. 35) και τα Liposome- Protamine -Hyaluronic acid (LPH), τροποποιημένο με αντίσωμα μονής αλυσίδας τμήμα, (scFv, single-chain variable fragment) έχει χρησιμοποιηθεί για τη μεταφορά miRNAs και siRNAs στα καρκινικά κύτταρα με επακόλουθο τη μείωση της ρύθμισης των γονιδίων-στόχων (c-Myc, MDM2 και VEGF).



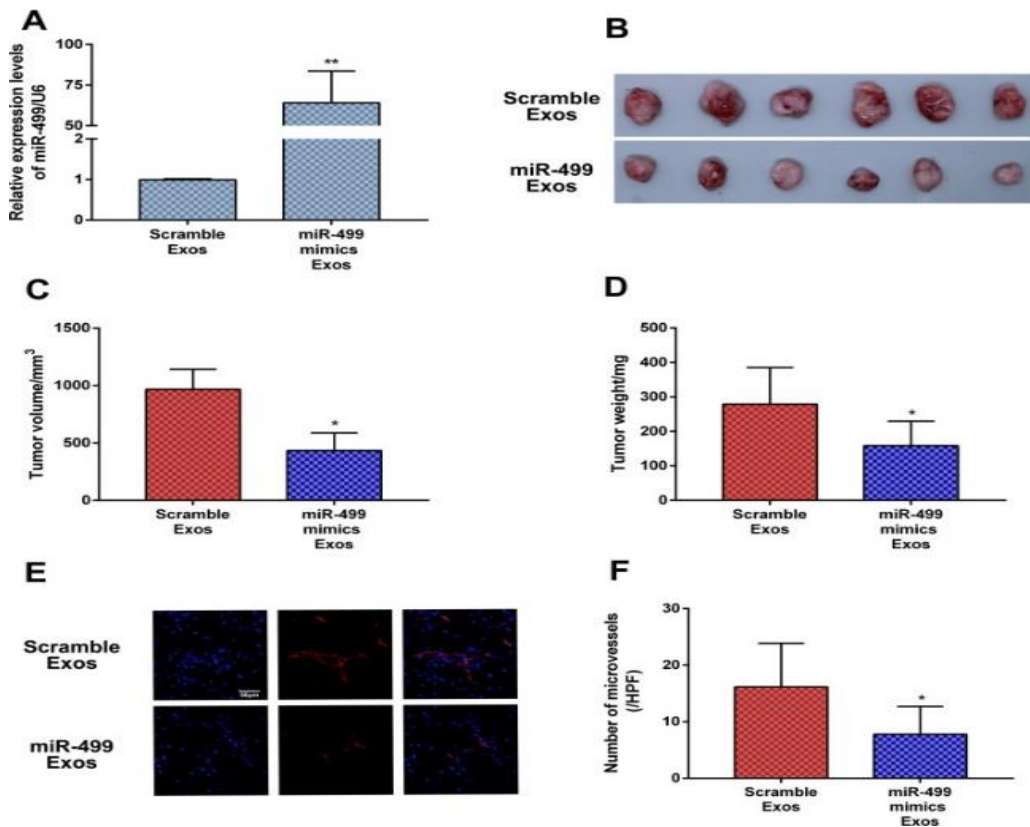
Εικόνα 35. MiRNA-based θεραπεία. (A), τα μόρια LNA μονής έλικας (anti-miRNAs) συνδέονται με τα miRNAs συμπληρωματικά, εμποδίζοντας τα miRNAs από τη δέσμευση στο mRNA-στόχο. Στη θεραπεία αντικατάστασης

με miRNAs (B), τα ογκοκατασταλτικά miRNAs που χάνονται κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης επανεισάγονται με τη χρήση ενός μιμητικού miRNA. Αυτές οι διπλής έλικας μιμητικές αλληλουχίες miRNAs μπορούν είτε να τροποποιηθούν στον συμπληρωματικό κλώνο είτε να εγκλωβιστούν σε νανοσωματίδια για να αυξήσουν τη σταθερότητά τους. Η μεταφορά των LNA-probes και των μιμητικών αλληλουχιών miRNA μπορούν να βελτιωθούν με νανοσωματίδια συζευγμένα με αντισώματα ή συνδέτες εξειδικευμένους για κάθε είδος καρκίνου LNA=Locked Nucleic Acid (Kong et al., 2012).

Ενδοφλέβια έγχυση νανοσωματιδίων τα οποία είναι τροποποιημένα με εξανθρωπισμένο (humanized) μονοκλωνικό αντίσωμα GC4, miR-34a και δύο siRNAs, οδήγησαν σε σημαντική συσσώρευση σε καρκινικά κύτταρα και σε αναστολή της έκφρασης των γονιδίων-στόχων (Chen et al., 2010). Τα ανωτέρω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι τα miRNAs μπορούν να μεταφέρονται ειδικά στα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιώντας μεταφορείς-νανοσωματίδια (carriers), τροποποιημένα με αντισώματα στους υποδοχείς επιφάνειας των καρκινικών κυττάρων, και ότι ο συνδυασμός siRNA και miRNA μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής ρύθμισης. Τα υπάρχοντα miRNAs είναι σχετικά ήπια σε σύγκριση με μοριακά στοχευμένα φάρμακα, αλλά τα miRNAs αναστέλλουν την έκφραση πολλαπλών μορίων-στόχων και προκαλούν λιγότερες ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε φυσιολογικά κύτταρα.

Ένα μεγάλο κεφάλαιο αποτελούν τα εξωσώματα, τα οποία θεωρούνται σήμερα σημαντικοί ρυθμιστές της διακυτταρικής επικοινωνίας. Τα προερχόμενα από μεσεγχυματικά κύτταρα εξωσώματα (Exos) ως σημαντικοί εκτελεστές και μεταφορείς φαρμάκων, προσφέρουν αρκετά πλεονεκτήματα (μη ανοσογόνα, εύκολα στη γενετική τροποποίηση, διαχείριση και αποθήκευση. Για την Exos-διαμεσολαβούμενη μεταφορά φαρμάκων, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αποτελούν καλύτερους δότες λόγω της αποτελεσματικότητας, της παραγωγής τους, της ανοσορρυθμιστικής ικανότητας και της κλινικής τους εφαρμογής. Η έκφραση του hsa-miR-499 σε ιστούς Σταδίου IA και Βαθμού 1 της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γυναικολογίας και Μαιευτικής (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO) βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερη από ό,τι σε άλλους (FIGO Στάδιο IB ή πιο προχωρημένο και Βαθμού 2 ή 3). Το εξωσωμικό miR-499 λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό στον καρκίνο του ενδομήτριου, μέσω της ρύθμισης του VAV3, και μέσω των μονοπατιών της αγγειογένεσης του καρκίνου του ενδομήτριου in vivo. Πιο συγκεκριμένα, το βάρος και το μέγεθος των όγκων των xenografts μειώθηκαν δραματικά στην ομάδα του εξωσωματικού miR-499 (εικ. 36), με αποτέλεσμα, αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να αποτελέσουν έγκυρο μοριακό στόχο για τη θεραπεία του καρκίνου του ενδομητρίου (Jing et al., 2020). Επίσης και σε άλλους καρκίνους έχει αναδειχθεί ότι το miR-499 έχει ογκοκατασταλτική δράση. Για παράδειγμα, ο Liu et al, ανέφεραν ότι το miR-499 προάγει την διήθηση και τη με-

τάσταση όγκου στον καρκίνο του παχέος εντέρου στοχεύοντας τα FOXO4 και PDCD4 (Liu et al., 2011).



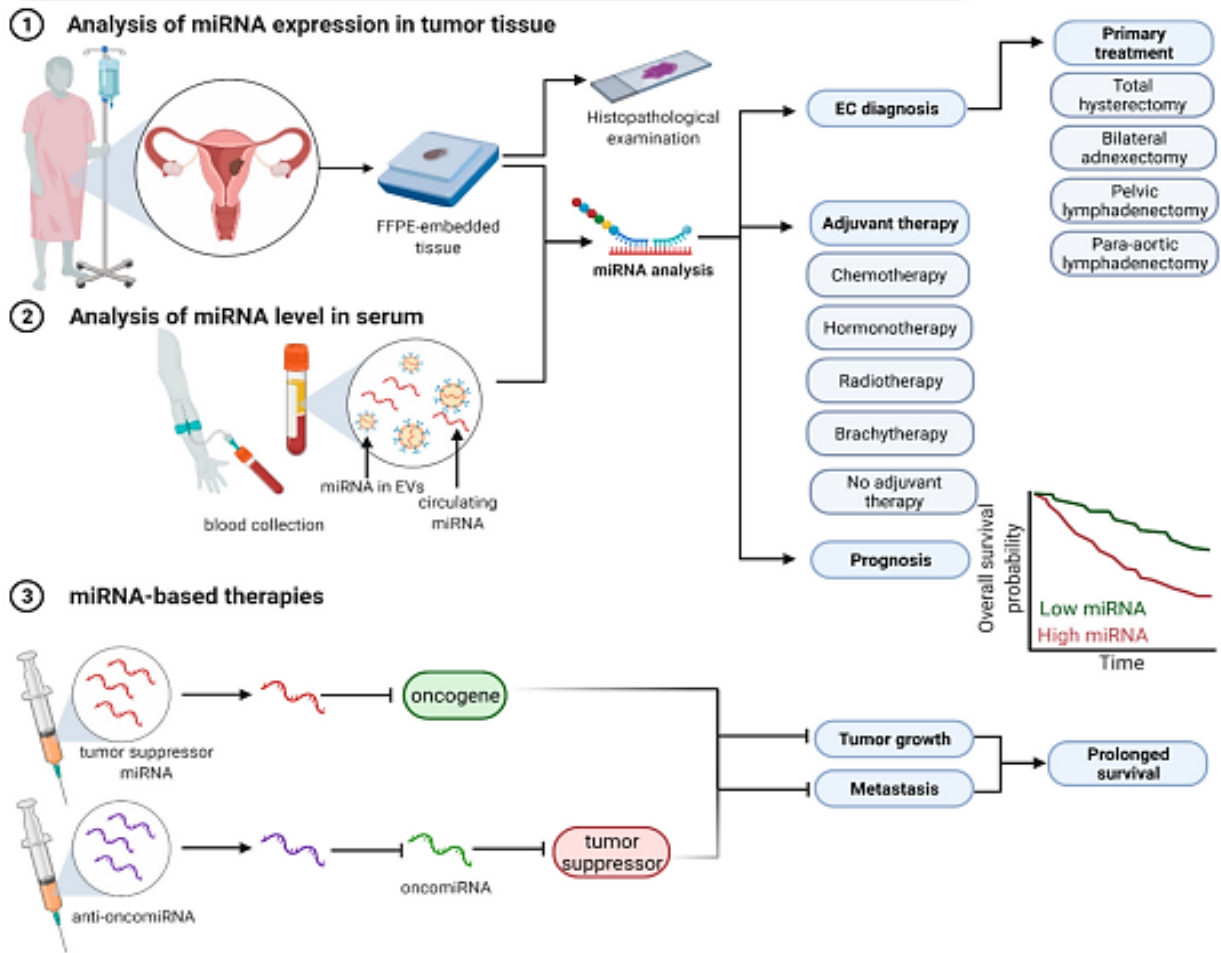
Εικόνα 36. Αναστολή *in vivo* ανάπτυξης και αγγειογένεσης του όγκου από το εξωσωματικό miR-499. (A) Τα επίπεδα έκφρασης του miR-499 ανιχνεύθηκαν με RT-PCR την ημέρα 28 μετά τις ενέσεις κυττάρων Ishikawa ($n=6$ κάθε ομάδα). (B–D) Το εξωσωματικό miR-499 μείωσε το μέγεθος των όγκων *in vivo* ($n=6$ κάθε ομάδα). (E) Η αγγειογένεση του όγκου ανιχνεύθηκε με χρώση ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας ένα αντίσωμα κατά του CD31 ($n=6$ κάθε ομάδα). (F) Ποσοτική εκτίμηση της πυκνότητας των τριχοειδών. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm SD. * $P<0,005$; ** $P<0,001$. (Tsukamoto et al., 2014).

Τέλος, το 2016 ξεκίνησε η ανάπτυξη εμβολίων βασισμένων σε miRNA τεχνολογία (miRNA-based vaccines) για ιικές λοιμώξεις με αντίκτυπο στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, στην επαγωγή σήματος και στην πρωτεϊνική σύνθεση (Yee & Poh, 2016). Τέτοιου είδους τεχνολογίες δημιουργούν προσδοκίες για το πεδίο νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων στον καρκίνο με λιγότερες παρενέργειες.

Συμπεράσματα

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι η πιο κοινή κακοήθεια του γυναικείου γεννητικού συστήματος στις ανεπτυγμένες χώρες και δεύτερη παγκοσμίως με αυξανόμενα ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας (Henley et al., 2018). Αν και αποτελεί έναν τύπο καρκίνου που γενικά σχετίζεται με καλή πρόγνωση, οι ασθενείς που παρουσιάζουν προχωρημένο ή υποτροπιάζον καρκίνο έχουν χαμηλά ποσοστά επιβίωσης. Έγκαιρη διάγνωση και έγκυρη αντιμετώπιση δίνει στους ασθενείς πολύ αυξημένο προσδόκιμο ζωής. Για να εντοπιστεί επακριβώς η κακοήθεια πραγματοποιείται διαγνωστική απόξεση με τη λήψη κολλικού επιχρίσματος ενώ βοηθητικό είναι και το διακολπικό υπερηχογράφημα (<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/diagnosis-treatment/drc-20352466>). Έως σήμερα, ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας είναι η χειρουργική αντιμετώπιση με λεμφαδενικό καθαρισμό όπου είναι αναγκαίο. Επικουρικές*(adjuvant) θεραπείες πριν ή μετά την επέμβαση έχουν οφέλη, κινδύνους και αντενδείξεις. Συνιστάται να ερωτώνται οι γιατροί για τα αναμενόμενα οφέλη και τους κινδύνους κάθε θεραπείας, προκειμένου να υπάρχει πληροφόρηση για τις συνέπειες της θεραπείας (<https://www.esmo.org/content/download/36781/728488/file/ESMO-ACF-Greek-endometrial-cancer-guide-patients.pdf>). Οι χημειοθεραπείες μπορεί κατά περίπτωση να μην είναι κατάλληλες λόγω κάποιας αρχικής ή επίκτητης αντίστασης. Η ορμονοθεραπεία και αγγειογενετικοί παράγοντες είναι μεταξύ των προβλεπόμενων και ευρέως χρησιμοποιούμενων θεραπευτικών σχημάτων. Οι πιο καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν επιγενετικούς ρυθμιστές, ρυθμιστές απόπτωσης ή ανοσοστοχευμένες θεραπείες.

miRNAs as diagnostic biomarkers and therapeutics



Εικόνα 37. Τα miRNAs ως διαγνωστικοί βιοδείκτες και θεραπευτικά μέσα. Τα miRNAs είναι πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες που μπορούν να αναλυθούν είτε από ιστό όγκου (1) είτε από αίμα που λαμβάνεται από ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου (2). Τα miRNAs μπορεί να υποστηρίξουν τη διάγνωση και να υποδεικνύουν πρωτογενή και επικουρική θεραπεία. Επιπλέον, η έκφρασή τους αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα. Θεραπείες που βασίζονται σε miRNAs που περιλαμβάνουν τα ογκοκατασταλτικά miRNAs και τα anti-oncomiRNAs ελέγχονται επί του παρόντος σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές (3). EVs—εξωκυτταρικά κυστίδια, FFPE—μονωμένα με φορμαλίνη, εσωματωμένα σε παραφίνη (Klicka et al., 2021).

Τα miRNAs ως ενδογενή μόρια, έχουν τεθεί στο επίκεντρο των ελάχιστα επεμβατικών μεθόδων διάγνωσης καθώς και των νέων θεραπευτικών στρατηγικών χωρίς αξιοσημείωτες αντενδείξεις (εικ.37). Τα miRNAs έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη γένεση και την εξέλιξη του όγκου και επομένως δικαιολογούν μια κλινική δυνατότητα ως διαγνωστικός και προγνωστικός δείκτης στον καρκίνο εν γένει αλλά και ειδικότερα στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Σε αυτή τη διπλωματική εργασία διεξήχθη μία συστηματική αναζήτηση για τον προσδιορισμό του ρόλου και της συνολικής διαγνωστικής και θεραπευτικής αξίας της έκφρασης των miRNAs στον καρκίνο του ενδομητρίου. Εκτεταμένες μελέτες αποκάλυψαν ότι τα miRNAs διακρίνονται όπως και σε άλλους τύπους καρκίνου, σε εκείνα που δρουν προστατευτικά έναντι του καρκίνου του ενδομητρίου έχοντας ογκοκατασταλτική δράση και αναχαιτίζοντας τη διαδικασία της διήθησης, της μετάστασης, της νεοαγγειογένεσης (πίνακας 2), αλλά και διαδικασίες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, και σε εκείνα που προωθούν την καρκινογένεση και την ανάπτυξη του όγκου (πίνακας 3).

Αντιπροσωπευτικά και καλά μελετημένα miRNAs που έχουν συσχετιστεί με αύξηση του μεταστατικού δυναμικού στους λεμφαδένες στον καρκίνο του ενδομητρίου είναι τα miR -10a, - miR-10b, miR -26a, miR -26a1, miR -34a, miR -95, miR -123, miR -125b1, miR -125b2, miR -133a, - miR-143, miR -145a, miR -181a, miR -200a, miR -203, miR -222-3p, και miR -429. Τα μονοπάτια που σχετίζονται με την διήθηση και τη μετάσταση είναι εκείνα που διαδραματίζουν έναν ρόλο στην επιθηλιο-μεσεγχυματική μετατροπή, στην αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού, στην επιγενετική ρύθμιση και εμπλέκουν έναν μεγάλο αριθμό αυξορρυθμισμένων και μειορρυθμισμένων miRNAs (εικ.38).

Μειωμένη έκφραση των miR -200c, miR -205, miR -429 και -1 miR 228 από την άλλη πλευρά, όπως και των miR -429 και miR -1228 οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι ασθενείς θα έχουν καλή πρόγνωση. Προς την ίδια κατεύθυνση οδηγεί και η αυξημένη έκφραση των miR -29b, miR -152, miR -199a -5p, και miR -455-5 (Delangle et al., 2019)].

Ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η διαφορική διάγνωση και έτσι, τα miR-222, το miR-223, το miR-186 και το miR-204, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση του ενδομητριοειδούς αδενοκαρκίνωματος με καλή ειδικότητα. Έτσι, συγκεκριμένη συνδυαστική έκφραση miRNAs μπορεί να αποσαφηνίσει συγκεκριμένους υποτύπους καρκίνου.

miRNA	Γονίδιο στόχος	Αποτέλεσμα
miR-10a	USF2, HOXA1, HOXD10, HOXB1, HOXB3, RB1CC1	Διήθηση, Μετάσταση
miR-9	FOXO1	Καρκινογένεση, μείωση της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου και κυτταρικός θάνατος
miR-21	Maspin, Pcd4	Καρκινογένεση
miR-27	PTEN	Κυτταρικός πολλαπλασιασμός
	FOXO1	Μυομητρική Διήθηση

	BAX	Αναστολή της απόπτωσης, αυξημένη καρκινική επιβίωση
miR-106a	TGFB111,CNN1, OLFML2A,Rbp1-like, FOXA1, KIF1A, ZIC1	Αναστολή του καρκίνου και ανάπτυξη
miR-106b-93	p21, BIM	Αναστολή του σταματήματος του κυτταρικού κύκλου και απόπτωσης
miR-125b	TP53INP1	Πολλαπλασιασμός και μετάσταση στον καρκίνο
miR-130a/b	Vimentin, N-cadherin, ZEB-1	Ενδοθηλιακή-μεσεγχυματική μετατροπή στον καρκίνο
miR-141	DICER1	Επιθετικότητα στον καρκίνο
miR-153	ZEB1, ZEB2	Διήθηση, Μετάσταση
	FOXO1	Καρκινογένεση, μείωση της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου και κυτταρικός θάνατος
miR-155	AGTR1	Κυτταρικός πολλαπλασιασμός
miR-182	FOXO1	Καρκινογένεση, μείωση της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου και κυτταρικός θάνατος
miR-183/-186	TCEAL7	Καρκινική ανάπτυξη
	FOXO1	Καρκινογένεση, μείωση της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου και κυτταρικός θάνατος
miR-200b	VEGF-A	Προώθηση αγγειογένεσης (ενδομητριοειδής καρκίνου του Ενδομητρίου)
miR-200c	TIMP2	Μετάσταση
	BRD7	Επαγωγή κυτταρικής επιβίωσης, πολλαπλασιασμού, μείωση απόπτωσης
miR-205	ZEBs, VEGF-A, FLT1, IKKb, KLF9, FBLN5	Μετατροπή σε καρκινικές καταστάσεις Αναστολή της κυτταρικής απόπτωσης
	PTEN	Αναστολή της κυτταρικής απόπτωσης
	ESRRG	Αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διήθησης, μετανάστευσης
miR-210	JPH4	Καρκινογένεση
miR-222-3p	VEGF-A	Προώθηση αγγειογένεσης (ενδομητριοειδής καρκίνου του Ενδομητρίου)
miR-429	Era	Επαγωγή πολλαπλασιασμού και διήθησης
	ZEB1, ZEB2	Διήθηση, Μετάσταση
let-7	BAX	Ενίσχυση επιβίωσης και κυτταρικού πολλαπλασιασμού

Πίνακας 2. miRNAs που προωθούν τον καρκίνο του ενδομητρίου (Sianou et al., 2015).

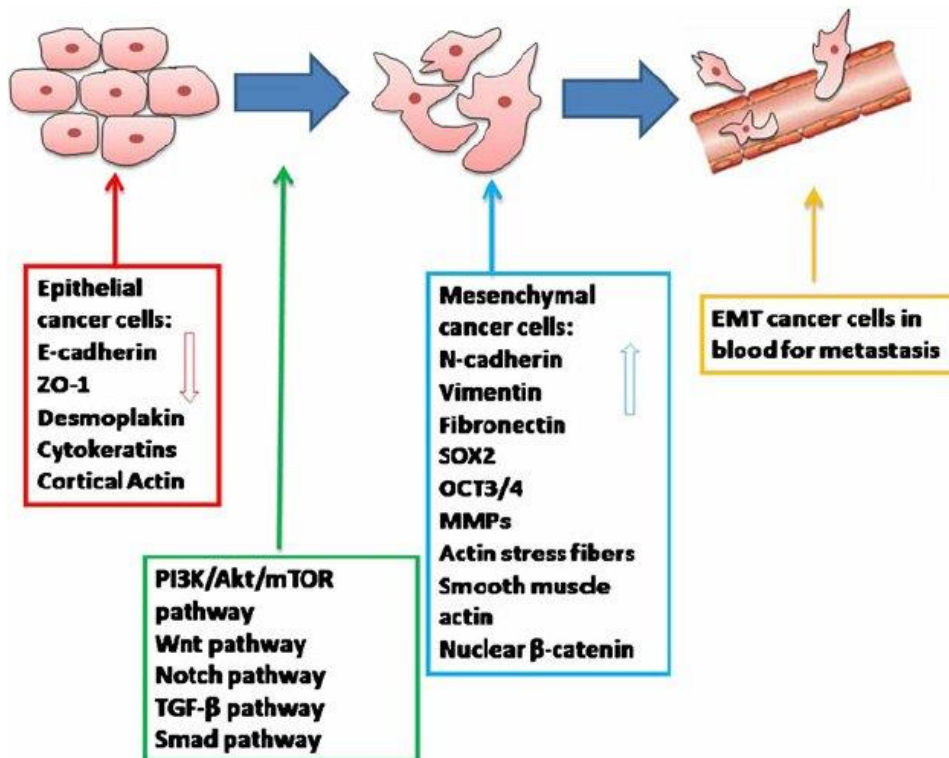
miRNA	Γονίδιο στόχος	Αποτέλεσμα
miR-1	SATB2	Επιδείνωση κυτταρικής μετανάστευσης και διήθησης
miR-20a	VEGF-A	Μείωση αγγειογένεσης του καρκίνου του ενδομητρίου
miR-25b	ERBB2	Μειορρύθμιση της διήθησης του HEC1B
miR-30c	MTA-1	Ογκοκαταστολή, αναστολή του πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης και διήθησης
miR-31	SATB2	Αναστολή διήθησης και μετανάστευσης
miR-34a	L1CAM	Αναστολή διήθησης και μετάστασης
miR-34b	MET	Ογκοκαταστολή (Ορώδες καρκίνωμα του Ενδομητρίου) και διήθηση
miR-34c	IL-6R	Ενίσχυση κυτταρικής απόπτωσης
miR-98	PGR, PGRMC1, CYP19A1, DDX3X	Ενδομητριοειδής μετατροπή σε καρκινικές καταστάσεις
miR-99a/b	mTOR kinase	Μειορρύθμιση οδηγεί σε παθογένεση καρκίνου του ενδομητρίου
miR-100	mTOR kinase	Μειορρύθμιση οδηγεί σε παθογένεση καρκίνου του ενδομητρίου
miR-101	EZH2, MCL-1, FOS	Καταστολή πολλαπλασιασμού, διήθησης και μεσεγχυματικού τύπου επιθετικών κυττάρων
miR-106b	TWIST1	Καταστολή διήθησης του καρκίνου του ενδομητρίου
miR-124	STAT3	Επαγωγή σταματήματος του κυτταρικού κύκλου και απόπτωσης
miR-125a	VEGF-A	Μείωση αγγειογένεσης του καρκίνου του ενδομητρίου
miR-125b	ERBB2	Αναστολή κυτταρικής διήθησης
miR-129-2	SOX4	Μειορρύθμιση οδηγεί σε μικροδορυφορική αστάθεια και κυτταρικός πολλαπλασιασμός
miR-143	DNMT3B	Μειορρύθμιση οδηγεί σε χειρότερη πρόγνωση

miR-145	Core TFS, linc-ROR	Μείωση σχηματισμού αποικιών
miR-148a	Oct-04	Αναστολή καρκινικής αύξησης και διαφοροποίησης καρκινικών κυττάρων
	DNMT3B	Μειορρύθμιση οδηγεί σε χειρότερη πρόγνωση
	WNT1, WNT10B	Επιδείνωση κυτταρικής μετανάστευσης
miR-152	E2F3, MET	Αναστολή καρκινικής αύξησης και καρκινογένεσης
miR-181a	PGR, PGRMC1, CYP19A1, DDX3X	Ενδομητριοειδής μετατροπή σε καρκινικές καταστάσεις
miR-193a-5p	YY1	Μειορρύθμιση οδηγεί σε καρκινική αύξηση
miR-199a-, -3p, -199b	mTOR	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού
miR-200 family	ZEB1	Μειορρύθμιση οδηγεί σε μεταστατικό δυναμικό
miR-200 family	c-Myc	Αναστολή της ενδοθηλιακής σε μεσεγχυματική μετατροπή
miR-200c	SOX4	Μειορρύθμιση οδηγεί σε μικροδορυφορική αστάθεια
	FN1, MSN, NTRK2, LEPR, ARHGAP19	Μειορρύθμιση προωθεί EMT φαινότυπο και επιθετική συμπεριφορά κυττάρων
miR-203	TrkB	Αναστολή καρκινικής αύξησης
miR-204	FOXC1	Αναστολή της μετανάστευσης-διάθησης των καρκινικών κυττάρων
miR-204-5p	VEGF-A	Μειορρύθμιση οδηγεί σε χειρότερη πρόγνωση

miR-206	Era	Επιδείνωση διήθησης, επαγωγή του σταματήματος του κυτταρικού κύκλου
miR-214	VEGF-A	Μειορρύθμιση οδηγεί σε χειρότερη πρόγνωση
miR-377	ETS1, XIAP, RNF38	Μειορρύθμιση οδηγεί σε αναστολή απόπτωσης
miR-424	CCND1, VEGF-A	Αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και προώθησης του κυτταρικού κύκλου του καρκίνου του ενδομητρίου
miR-449a	CDC25A	Αναστολή πολλαπλασιασμού, διήθησης, κλινικής επιβίωσης των HEC1B κυττάρων
miR-503	CCND1	Αναστολή προωθεί καρκινογένεση και ανάπτυξη του καρκίνου του ενδομητρίου
miR-543	TWIST1, FAK	Μείωση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, της ανεξάρτητης από την αγκύρωση ανάπτυξης και διήθησης

Πίνακας 3. miRNAs που προστατεύουν από τον καρκίνο του ενδομητρίου (Sianou et al., 2015).

Πρόσφατα, έχει αποδειχθεί ότι εκτός από τη μεμονωμένη ή τη συνδυαστική δράση ανταγωνιστικά ενδογενή RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) ρυθμίζουν άλλα μεταγραφα RNA ανταγωνιζόμενα με τα miRNAs. Για το σύμπλεγμα ceRNA, αποτελούμενο από lncRNA–miRNA–mRNA, έχει προταθεί ότι και τα circRNAs μπορούν να λειτουργήσουν ως ceRNA για να δεσμευτούν στα miRNAs, απελευθερώνοντας λειτουργικά mRNAs (Cui et al., 2018). Ένα νέο παράδειγμα είναι το circ-IFT80/miR-545-3p/FAM89A, που ρυθμίζει την συμπεριφορά των κυττάρων του καρκίνου του ενδομητρίου (Wang et al., 2022) και μπορεί να αποτελέσει πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο.



Εικόνα 38. Άμεσοι στόχοι των miRNAs που ρυθμίζουν την διήθηση και τη μετάσταση (Chang et al., 2014).

Τα miRNAs εκτός από πολλά υποσχόμενοι διαγνωστικοί δείκτες έχουν αποτελέσει έναυσμα για καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Μιμητικές αλληλουχίες των miRNAs με στόχο την ενίσχυση της παθολογικά μειωμένης έκφρασης ή ανταγωνιστικοί αναστολείς για μείωση της παθολογικής αυξορρύθμισης είναι νέα θεραπευτικά μόρια που δείχνουν να έχουν περιορισμένες παρενέργειες εφόσον αποτελούν ενδογενή μόρια (Winata et al., 2017). Η διερεύνηση όλων των συνεργιστικών αποτελεσμάτων στην ποικιλία των στόχων πρέπει να ολοκληρωθεί προτού μια μιμητική θεραπεία χρησιμοποιηθεί σε κλινική δοκιμή.

Τα miRNAs μπορεί ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν σε περιβάλλον χαμηλών πόρων όπου υπάρχει έλλειψη εκπαιδευμένων ιστοπαθολόγων. Επιπλέον, μια δοκιμή miRNAs ούρων ή αίματος μπορεί ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί ως μη επεμβατική εξέταση για την ανίχνευση του καρκίνου του ενδομήτριου (βιοδείκτες).

Τέλος, απαιτούνται περαιτέρω μεγάλες μεταφραστικές και κλινικές μελέτες για την αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας των miRNAs.

Βιβλιογραφία ιστοσελίδων

1. <http://users.sch.gr/ipap/Ellinikos%20Politismos/AR/ar.ag/Diosphos-Painter13.htm>
2. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04845425>
3. <https://seer.cancer.gov/statfacts/>
4. <https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html>
5. <https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/treating/immunotherapy.html>.
6. <https://www.cancerresearchuk.org/>
7. <https://www.esmo.org/content/download/36781/728488/file/ESMO-ACF-Greek-endometrial-cancer-guide-patients.pdf>
8. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/diagnosis-treatment/drc-20352466>
9. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/symptoms-causes/syc-20352461>
10. https://stock.adobe.com/gr_en/images/biology-diagram-show-infographic-of-cell-cycle-the-growth-dna-replication-and-mitosis-phase-of-cell-and-chromosome-in-nucleus/374112049
11. https://www.researchgate.net/publication/325747877_Three_primary_synchronous_malignancies_of_the_uterus_cervix_and_fallopian_tube_A_case_report/figures?lo=1
12. <https://www.targetedonc.com/view/fda-approves-lenvatinib-pembrolizumab-for-select-patients-with-advanced-endometrial-cancer> (2021). In: FDA Approves Lenvatinib/Pembrolizumab for Select Patients with Advanced Endometrial Cancer. *Targeted Oncology*.
13. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/corp.html> (2018). In: Cancer Stat Facts: Uterine Cancer. *National-Cancer-Institute*.

Βιβλιογραφία

1. Alberts, B. (2014). *Molecular Biology of the Cell* (4th edition ed.).

2. Althubiti, M. A. (2019). Mutation Frequencies in Endometrial Cancer Patients of Different Ethnicities and Tumor Grades: An Analytical Study. *Saudi J Med Med Sci*, 7(1), 16-21. https://doi.org/10.4103/sjmms.sjmms_154_18
3. Amant, F., Moerman, P., Neven, P., Timmerman, D., Van Limbergen, E., & Vergote, I. (2005). Endometrial cancer. *Lancet*, 366(9484), 491-505. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67063-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67063-8)
4. Annese, T., Tamma, R., De Giorgis, M., & Ribatti, D. (2020). microRNAs Biogenesis, Functions and Role in Tumor Angiogenesis. *Front Oncol*, 10, 581007. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.581007>
5. Aqeilan, R. I., Calin, G. A., & Croce, C. M. (2010). miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives. *Cell Death Differ*, 17(2), 215-220. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.69>
6. Arasu, P., Wightman, B., & Ruvkun, G. (1991). Temporal regulation of lin-14 by the antagonistic action of two other heterochronic genes, lin-4 and lin-28. *Genes Dev*, 5(10), 1825-1833. <https://doi.org/10.1101/gad.5.10.1825>
7. Bütepage, M., Eckeï, L., Verheugd, P., & Lüscher, B. (2015). Intracellular Mono-ADP-Ribosylation in Signaling and Disease. *Cells*, 4(4), 569-595. <https://doi.org/10.3390/cells4040569>
8. Baek, J., Kang, S., & Min, H. (2014). MicroRNA-targeting therapeutics for hepatitis C. *Arch Pharm Res*, 37(3), 299-305. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0318-9>
9. Balch, C., Matei, D. E., Huang, T. H., & Nephew, K. P. (2010). Role of epigenomics in ovarian and endometrial cancers. *Epigenomics*, 2(3), 419-447. <https://doi.org/10.2217/epi.10.19>
10. Banno, K., Kisu, I., Yanokura, M., Masuda, K., Ueki, A., Kobayashi, Y., Susumu, N., & Aoki, D. (2012). Epigenetics and genetics in endometrial cancer: new carcinogenic mechanisms and relationship with clinical practice. *Epigenomics*, 4(2), 147-162. <https://doi.org/10.2217/epi.12.13>
11. Bansal, N., Yendluri, V., & Wenham, R. M. (2009). The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control*, 16(1), 8-13. <https://doi.org/10.1177/107327480901600102>
12. Bao, W., Zhang, Y., Li, S., Fan, Q., Qiu, M., Wang, Y., Li, Y., Ji, X., Yang, Y., Sang, Z., Xu, W., Yang, Y., Wu, S., & Zhu, Y. (2019). miR-107-5p promotes tumor proliferation and

- invasion by targeting estrogen receptor- α in endometrial carcinoma. *Oncol Rep*, 41(3), 1575-1585. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6936>
13. Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281-297. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00045-5)
 14. Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2), 215-233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
 15. Bermudez, V. P., Farina, A., Raghavan, V., Tappin, I., & Hurwitz, J. (2011). Studies on human DNA polymerase epsilon and GINS complex and their role in DNA replication. *J Biol Chem*, 286(33), 28963-28977. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.256289>
 16. Billingsley, C. C., Cohn, D. E., Mutch, D. G., Stephens, J. A., Suarez, A. A., & Goodfellow, P. J. (2015). Polymerase ϵ (POLE) mutations in endometrial cancer: clinical outcomes and implications for Lynch syndrome testing. *Cancer*, 121(3), 386-394. <https://doi.org/10.1002/cncr.29046>
 17. Bjorkman, S., & Taylor, H. S. (2019). MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates[†]. *Biol Reprod*, 100(5), 1135-1146. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox014>
 18. Boland, A., Huntzinger, E., Schmidt, S., Izaurralde, E., & Weichenrieder, O. (2011). Crystal structure of the MID-PIWI lobe of a eukaryotic Argonaute protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(26), 10466-10471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103946108>
 19. Boren, T., Xiong, Y., Hakam, A., Wenham, R., Apte, S., Wei, Z., Kamath, S., Chen, D. T., Dressman, H., & Lancaster, J. M. (2008). MicroRNAs and their target messenger RNAs associated with endometrial carcinogenesis. *Gynecol Oncol*, 110(2), 206-215. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.03.023>
 20. Cai, X., Hagedorn, C. H., & Cullen, B. R. (2004). Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *Rna*, 10(12), 1957-1966. <https://doi.org/10.1261/rna.7135204>
 21. Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., Shimizu, M., Rattan, S., Bullrich, F., Negrini, M., & Croce, C. M. (2004). Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(9), 2999-3004. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307323101>

22. Cazzalini, O., Scovassi, A. I., Savio, M., Stivala, L. A., & Prosperi, E. (2010). Multiple roles of the cell cycle inhibitor p21(CDKN1A) in the DNA damage response. *Mutat Res*, 704(1-3), 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.009>
23. Chan, S.-H., & Wang, L.-H. (2015). Regulation of cancer metastasis by microRNAs. *Journal of Biomedical Science*, 22(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12929-015-0113-7>
24. Chen, C., Zhao, Y., Yu, Y., Li, R., & Qiao, J. (2016). MiR-125b regulates endometrial receptivity by targeting MMP26 in women undergoing IVF-ET with elevated progesterone on HCG priming day. *Sci Rep*, 6, 25302. <https://doi.org/10.1038/srep25302>
25. Chen, H., Taylor, N. P., Sotamaa, K. M., Mutch, D. G., Powell, M. A., Schmidt, A. P., Feng, S., Hampel, H. L., de la Chapelle, A., & Goodfellow, P. J. (2007). Evidence for heritable predisposition to epigenetic silencing of MLH1. *Int J Cancer*, 120(8), 1684-1688. <https://doi.org/10.1002/ijc.22406>
26. Chen, Y., Zhu, X., Zhang, X., Liu, B., & Huang, L. (2010). Nanoparticles modified with tumor-targeting scFv deliver siRNA and miRNA for cancer therapy. *Mol Ther*, 18(9), 1650-1656. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.136>
27. Chim, S. S., Shing, T. K., Hung, E. C., Leung, T. Y., Lau, T. K., Chiu, R. W., & Lo, Y. M. (2008). Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*, 54(3), 482-490. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.097972>
28. Chung, T. K., Cheung, T. H., Huen, N. Y., Wong, K. W., Lo, K. W., Yim, S. F., Siu, N. S., Wong, Y. M., Tsang, P. T., Pang, M. W., Yu, M. Y., To, K. F., Mok, S. C., Wang, V. W., Li, C., Cheung, A. Y., Doran, G., Birrer, M. J., Smith, D. I., & Wong, Y. F. (2009). Dysregulated microRNAs and their predicted targets associated with endometrioid endometrial adenocarcinoma in Hong Kong women. *Int J Cancer*, 124(6), 1358-1365. <https://doi.org/10.1002/ijc.24071>
29. Chung, T. K., Lau, T. S., Cheung, T. H., Yim, S. F., Lo, K. W., Siu, N. S., Chan, L. K., Yu, M. Y., Kwong, J., Doran, G., Barroilhet, L. M., Ng, A. S., Wong, R. R., Wang, V. W., Mok, S. C., Smith, D. I., Berkowitz, R. S., & Wong, Y. F. (2012). Dysregulation of microRNA-204 mediates migration and invasion of endometrial cancer by regulating FOXC1. *Int J Cancer*, 130(5), 1036-1045. <https://doi.org/10.1002/ijc.26060>

30. Cochrane, D. R., Cittelly, D. M., & Richer, J. K. (2011). Steroid receptors and microRNAs: relationships revealed. *Steroids*, 76(1-2), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2010.11.003>
31. Cohen, A., Shmoish, M., Levi, L., Cheruti, U., Levavi-Sivan, B., & Lubzens, E. (2008). Alterations in micro-ribonucleic acid expression profiles reveal a novel pathway for estrogen regulation. *Endocrinology*, 149(4), 1687-1696. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0969>
32. Consortium, T. E.-P.-. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. In.
33. Crichton, D. J., Altinok, A., Amos, C. I., Anton, K., Cinquini, L., Colbert, M., Feng, Z., Goel, A., Kelly, S., Kincaid, H., Liu, D., Lombeyda, S., Mahabal, A., Mishra, A., Patriotis, C., & Srivastava, S. (2020). Cancer Biomarkers and Big Data: A Planetary Science Approach. *Cancer Cell*, 38(6), 757-760. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.09.006>
34. Croce, C. M. (2009). Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat Rev Genet*, 10(10), 704-714. <https://doi.org/10.1038/nrg2634>
35. Cui, X., Wang, J., Guo, Z., Li, M., Li, M., Liu, S., Liu, H., Li, W., Yin, X., Tao, J., & Xu, W. (2018). Emerging function and potential diagnostic value of circular RNAs in cancer. *Mol Cancer*, 17(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0877-y>
36. Delangle, R., De Foucher, T., Larsen, A. K., Sabbah, M., Azaïs, H., Bendifallah, S., Daraï, E., Ballester, M., Mehats, C., Uzan, C., & Canlorbe, G. (2019). The Use of microRNAs in the Management of Endometrial Cancer: A Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/cancers11060832>
37. Dews, M., Fox, J. L., Hultine, S., Sundaram, P., Wang, W., Liu, Y. Y., Furth, E., Enders, G. H., El-Deiry, W., Schelter, J. M., Cleary, M. A., & Thomas-Tikhonenko, A. (2010). The myc-miR-17~92 axis blunts TGF{beta} signaling and production of multiple TGF{beta}-dependent antiangiogenic factors. *Cancer Res*, 70(20), 8233-8246. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-10-2412>
38. Di Stefano, C., Mirone, G., Perna, S., & Marfe, G. (2016). The roles of microRNAs in the pathogenesis and drug resistance of chronic myelogenous leukemia (Review). *Oncol Rep*, 35(2), 614-624. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4456>
39. Dong, P., Kaneuchi, M., Watari, H., Hamada, J., Sudo, S., Ju, J., & Sakuragi, N. (2011). MicroRNA-194 inhibits epithelial to mesenchymal transition of endometrial cancer

- cells by targeting oncogene BMI-1. *Mol Cancer*, 10, 99. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-99>
40. Ebi, H., Sato, T., Sugito, N., Hosono, Y., Yatabe, Y., Matsuyama, Y., Yamaguchi, T., Osada, H., Suzuki, M., & Takahashi, T. (2009). Counterbalance between RB inactivation and miR-17-92 overexpression in reactive oxygen species and DNA damage induction in lung cancers. *Oncogene*, 28(38), 3371-3379. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.201>
41. Erson-Omay, E. Z., Çağlayan, A. O., Schultz, N., Weinhold, N., Omay, S. B., Özduman, K., Köksal, Y., Li, J., Serin Harmancı, A., Clark, V., Carrión-Grant, G., Baranoski, J., Çağlar, C., Barak, T., Coşkun, S., Baran, B., Köse, D., Sun, J., Bakırcioğlu, M., . . . Günel, M. (2015). Somatic POLE mutations cause an ultramutated giant cell high-grade glioma subtype with better prognosis. *Neuro Oncol*, 17(10), 1356-1364. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov027>
42. Esteller, M., Levine, R., Baylin, S. B., Ellenson, L. H., & Herman, J. G. (1998). MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene*, 17(18), 2413-2417. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202178>
43. Faehnle, C. R., Elkayam, E., Haase, A. D., Hannon, G. J., & Joshua-Tor, L. (2013). The making of a slicer: activation of human Argonaute-1. *Cell Rep*, 3(6), 1901-1909. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.05.033>
44. Fang, Y., & Fullwood, M. J. (2016). Roles, Functions, and Mechanisms of Long Non-coding RNAs in Cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 14(1), 42-54. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.09.006>
45. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E., & Mello, C. C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391(6669), 806-811. <https://doi.org/10.1038/35888>
46. Förstemann, K., Tomari, Y., Du, T., Vagin, V. V., Denli, A. M., Bratu, D. P., Klattenhoff, C., Theurkauf, W. E., & Zamore, P. D. (2005). Normal microRNA maturation and germline stem cell maintenance requires Loquacious, a double-stranded RNA-binding domain protein. *PLoS Biol*, 3(7), e236. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030236>
47. Gibbins, D., Mostowy, S., Jay, F., Schwab, Y., Cossart, P., & Voinnet, O. (2012). Selective autophagy degrades DICER and AGO2 and regulates miRNA activity. *Nat Cell Biol*, 14(12), 1314-1321. <https://doi.org/10.1038/ncb2611>

48. Gilad, S., Meiri, E., Yogeve, Y., Benjamin, S., Lebanony, D., Yerushalmi, N., Benjamin, H., Kushnir, M., Cholak, H., Melamed, N., Bentwich, Z., Hod, M., Goren, Y., & Chajut, A. (2008). Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One*, 3(9), e3148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003148>
49. Gilks, C. B., Oliva, E., & Soslow, R. A. (2013). Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 37(6), 874-881. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31827f576a>
50. Goodfellow, P. J., Buttin, B. M., Herzog, T. J., Rader, J. S., Gibb, R. K., Swisher, E., Look, K., Walls, K. C., Fan, M. Y., & Mutch, D. G. (2003). Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(10), 5908-5913. <https://doi.org/10.1073/pnas.1030231100>
51. Gregory, R. I., Yan, K. P., Amuthan, G., Chendrimada, T., Doratotaj, B., Cooch, N., & Shiekhattar, R. (2004). The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*, 432(7014), 235-240. <https://doi.org/10.1038/nature03120>
52. Guenther, M., Veninga, V., Kumbrink, J., Haas, M., Westphalen, C. B., Kruger, S., Heinemann, V., Kirchner, T., Boeck, S., Jung, A., & Ormanns, S. (2018). POLE gene hotspot mutations in advanced pancreatic cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 144(11), 2161-2166. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2746-x>
53. Guerra, J., Pinto, C., Pinto, D., Pinheiro, M., Silva, R., Peixoto, A., Rocha, P., Veiga, I., Santos, C., Santos, R., Cabreira, V., Lopes, P., Henrique, R., & Teixeira, M. R. (2017). POLE somatic mutations in advanced colorectal cancer. *Cancer Med*, 6(12), 2966-2971. <https://doi.org/10.1002/cam4.1245>
54. Ha, T. Y. (2011). MicroRNAs in Human Diseases: From Cancer to Cardiovascular Disease. *Immune Netw*, 11(3), 135-154. <https://doi.org/10.4110/in.2011.11.3.135>
55. Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Kim, Y. K., Jin, H., & Kim, V. N. (2004). The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*, 18(24), 3016-3027. <https://doi.org/10.1101/gad.1262504>
56. Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Nam, J. W., Heo, I., Rhee, J. K., Sohn, S. Y., Cho, Y., Zhang, B. T., & Kim, V. N. (2006). Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*, 125(5), 887-901. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.043>

57. Han, J., Pedersen, J. S., Kwon, S. C., Belair, C. D., Kim, Y. K., Yeom, K. H., Yang, W. Y., Haussler, D., Belloch, R., & Kim, V. N. (2009). Posttranscriptional crossregulation between Drosha and DGCR8. *Cell*, 136(1), 75-84. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.10.053>
58. Heitzer, E., & Tomlinson, I. (2014). Replicative DNA polymerase mutations in cancer. *Curr Opin Genet Dev*, 24(100), 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.12.005>
59. Henley, S. J., Miller, J. W., Dowling, N. F., Benard, V. B., & Richardson, L. C. (2018). Uterine Cancer Incidence and Mortality - United States, 1999-2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 67(48), 1333-1338. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6748a1>
60. Hermyt, E., Zmarzły, N., Grabarek, B., Kruszniewska-Rajs, C., Gola, J., Jęda-Golonka, A., Szczepanek, K., Mazurek, U., & Witek, A. (2019). Interplay between miRNAs and Genes Associated with Cell Proliferation in Endometrial Cancer. *Int J Mol Sci*, 20(23). <https://doi.org/10.3390/ijms20236011>
61. Hiroki, E., Suzuki, F., Akahira, J., Nagase, S., Ito, K., Sugawara, J., Miki, Y., Suzuki, T., Sasano, H., & Yaegashi, N. (2012). MicroRNA-34b functions as a potential tumor suppressor in endometrial serous adenocarcinoma. *Int J Cancer*, 131(4), E395-404. <https://doi.org/10.1002/ijc.27345>
62. Höck, J., Weinmann, L., Ender, C., Rüdell, S., Kremmer, E., Raabe, M., Urlaub, H., & Meister, G. (2007). Proteomic and functional analysis of Argonaute-containing mRNA-protein complexes in human cells. *EMBO Rep*, 8(11), 1052-1060. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7401088>
63. Hong, X., Luense, L. J., McGinnis, L. K., Nothnick, W. B., & Christenson, L. K. (2008). Dicer1 is essential for female fertility and normal development of the female reproductive system. *Endocrinology*, 149(12), 6207-6212. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0294>
64. Hu, J., & Sun, J. (2018). MUC16 mutations improve patients' prognosis by enhancing the infiltration and antitumor immunity of cytotoxic T lymphocytes in the endometrial cancer microenvironment. *Oncoimmunology*, 7(10), e1487914. <https://doi.org/10.1080/2162402x.2018.1487914>
65. Hu, Q., Tanasa, B., Trabucchi, M., Li, W., Zhang, J., Ohgi, K. A., Rose, D. W., Glass, C. K., & Rosenfeld, M. G. (2012). DICER- and AGO3-dependent generation of retinoic acid-

- induced DR2 Alu RNAs regulates human stem cell proliferation. *Nat Struct Mol Biol*, 19(11), 1168-1175. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2400>
66. Huang, Y. W., Liu, J. C., Deatherage, D. E., Luo, J., Mutch, D. G., Goodfellow, P. J., Miller, D. S., & Huang, T. H. (2009). Epigenetic repression of microRNA-129-2 leads to overexpression of SOX4 oncogene in endometrial cancer. *Cancer Res*, 69(23), 9038-9046. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-09-1499>
67. Hutvagner, G., & Simard, M. J. (2008). Argonaute proteins: key players in RNA silencing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9(1), 22-32. <https://doi.org/10.1038/nrm2321>
68. Iki, T., Yoshikawa, M., Nishikiori, M., Jaudal, M. C., Matsumoto-Yokoyama, E., Mitsuhashi, I., Meshi, T., & Ishikawa, M. (2010). In vitro assembly of plant RNA-induced silencing complexes facilitated by molecular chaperone HSP90. *Mol Cell*, 39(2), 282-291. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.014>
69. Iwasaki, S., Kobayashi, M., Yoda, M., Sakaguchi, Y., Katsuma, S., Suzuki, T., & Tomari, Y. (2010). Hsc70/Hsp90 chaperone machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. *Mol Cell*, 39(2), 292-299. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.015>
70. Jan, S. Z., Vormer, T. L., Jongejan, A., Röling, M. D., Silber, S. J., de Rooij, D. G., Hamer, G., Repping, S., & van Pelt, A. M. M. (2017). Unraveling transcriptome dynamics in human spermatogenesis. *Development*, 144(20), 3659-3673. <https://doi.org/10.1242/dev.152413>
71. Jeanteur, P. (2010). [miRNAs and cancer]. *Bull Cancer*, 97(11), 1231-1239. <https://doi.org/10.1684/bdc.2010.1201> (miRNAs et cancer.)
72. Ji, Q., Hao, X., Zhang, M., Tang, W., Yang, M., Li, L., Xiang, D., Desano, J. T., Bommer, G. T., Fan, D., Fearon, E. R., Lawrence, T. S., & Xu, L. (2009). MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells. *PLoS One*, 4(8), e6816. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006816>
73. Jiang, F., Liu, T., He, Y., Yan, Q., Chen, X., Wang, H., & Wan, X. (2011). MiR-125b promotes proliferation and migration of type II endometrial carcinoma cells through targeting TP53INP1 tumor suppressor in vitro and in vivo. *BMC Cancer*, 11, 425. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-425>

74. Jiang, F., Ye, X., Liu, X., Fincher, L., McKearin, D., & Liu, Q. (2005). Dicer-1 and R3D1-L catalyze microRNA maturation in *Drosophila*. *Genes Dev*, *19*(14), 1674-1679. <https://doi.org/10.1101/gad.1334005>
75. Jin, S., Zhan, J., & Zhou, Y. (2021). Argonaute proteins: structures and their endonuclease activity. *Mol Biol Rep*, *48*(5), 4837-4849. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06476-w>
76. Jing, L., Hua, X., Yuanna, D., Rukun, Z., & Junjun, M. (2020). Exosomal miR-499a-5p Inhibits Endometrial Cancer Growth and Metastasis via Targeting VAV3. *Cancer Manag Res*, *12*, 13541-13552. <https://doi.org/10.2147/cmar.S283747>
77. Jolly, M. K., Boareto, M., Huang, B., Jia, D., Lu, M., Ben-Jacob, E., Onuchic, J. N., & Levine, H. (2015). Implications of the Hybrid Epithelial/Mesenchymal Phenotype in Metastasis. *Front Oncol*, *5*, 155. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00155>
78. Josa-Prado, F., Henley, J. M., & Wilkinson, K. A. (2015). SUMOylation of Argonaute-2 regulates RNA interference activity. *Biochem Biophys Res Commun*, *464*(4), 1066-1071. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.07.073>
79. Joshi, M. (2014). Micro RNA: Biomarker for Cancer Diagnosis and Prognosis. https://www.researchgate.net/publication/274373180_Micro_RNA_Biomarker_for_Cancer_Diagnosis_and_Prognosis
80. Jung, G., Hernández-Illán, E., Moreira, L., Balaguer, F., & Goel, A. (2020). Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, *17*(2), 111-130. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0230-y>
81. K. N. Felekis, E. T., C. Stefanou, C Deltas. (2010). MicroRNAs: A newly described class of encoded molecules that play a role in health and disease. *Hippocratia* *14*(4):236-40. https://www.researchgate.net/publication/49827137_MicroRNAs_A_newly_described_class_of_encoded_molecules_that_play_a_role_in_health_and_disease
82. Kajiyama, H., Suzuki, S., Yoshihara, M., Tamauchi, S., Yoshikawa, N., Niimi, K., Shibata, K., & Kikkawa, F. (2019). Endometriosis and cancer. *Free Radic Biol Med*, *133*, 186-192. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.015>
83. Kalluri, R., & Weinberg, R. A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*, *119*(6), 1420-1428. <https://doi.org/10.1172/jci39104>
84. Kenny, P. J., Zhou, H., Kim, M., Skariah, G., Khetani, R. S., Drnevich, J., Arcila, M. L., Kosik, K. S., & Ceman, S. (2014). MOV10 and FMRP regulate AGO2 association with

- microRNA recognition elements. *Cell Rep*, 9(5), 1729-1741. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.10.054>
85. Kim, V. N. (2004). MicroRNA precursors in motion: exportin-5 mediates their nuclear export. *Trends Cell Biol*, 14(4), 156-159. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.02.006>
86. Kim, V. N. (2005). MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6(5), 376-385. <https://doi.org/10.1038/nrm1644>
87. Kim, V. N., Han, J., & Siomi, M. C. (2009). Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(2), 126-139. <https://doi.org/10.1038/nrm2632>
88. Kim, Y. K., & Kim, V. N. (2007). Processing of intronic microRNAs. *Embo j*, 26(3), 775-783. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601512>
89. Klicka, K., Grzywa, T. M., Klinke, A., Mielniczuk, A., & Włodarski, P. K. (2021). The Role of miRNAs in the Regulation of Endometrial Cancer Invasiveness and Metastasis-A Systematic Review. *Cancers (Basel)*, 13(14). <https://doi.org/10.3390/cancers13143393>
90. Klinge, C. M. (2012). miRNAs and estrogen action. *Trends Endocrinol Metab*, 23(5), 223-233. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.03.002>
91. Kong, Y. W., Ferland-McCollough, D., Jackson, T. J., & Bushell, M. (2012). microRNAs in cancer management. *Lancet Oncol*, 13(6), e249-258. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70073-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70073-6)
92. Korpala, M., Ell, B. J., Buffa, F. M., Ibrahim, T., Blanco, M. A., Celià-Terrassa, T., Mercatali, L., Khan, Z., Goodarzi, H., Hua, Y., Wei, Y., Hu, G., Garcia, B. A., Ragoussis, J., Amadori, D., Harris, A. L., & Kang, Y. (2011). Direct targeting of Sec23a by miR-200s influences cancer cell secretome and promotes metastatic colonization. *Nat Med*, 17(9), 1101-1108. <https://doi.org/10.1038/nm.2401>
93. Kumar, R., Paul, A. M., Rameshwar, P., & Pillai, M. R. (2019). Epigenetic Dysregulation at the Crossroad of Women's Cancer. *Cancers (Basel)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/cancers11081193>
94. Kuokkanen, S., Chen, B., Ojalvo, L., Benard, L., Santoro, N., & Pollard, J. W. (2010). Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. *Biol Reprod*, 82(4), 791-801. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.081059>
95. Kurnit, K. C., Kim, G. N., Fellman, B. M., Urbauer, D. L., Mills, G. B., Zhang, W., & Broaddus, R. R. (2017). CTNNB1 (beta-catenin) mutation identifies low grade, early

- stage endometrial cancer patients at increased risk of recurrence. *Mod Pathol*, 30(7), 1032-1041. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.15>
96. Kwak, P. B., & Tomari, Y. (2012). The N domain of Argonaute drives duplex unwinding during RISC assembly. *Nat Struct Mol Biol*, 19(2), 145-151. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2232>
97. Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2017). Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell*, 168(4), 670-691. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.037>
98. Lane, J. S., Hoff, D. V., Cridebring, D., & Goel, A. (2020). Extracellular Vesicles in Diagnosis and Treatment of Pancreatic Cancer: Current State and Future Perspectives. *Cancers (Basel)*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/cancers12061530>
99. Lawrie, C. H., Gal, S., Dunlop, H. M., Pushkaran, B., Liggins, A. P., Pulford, K., Banham, A. H., Pezzella, F., Boulwood, J., Wainscoat, J. S., Hatton, C. S., & Harris, A. L. (2008). Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*, 141(5), 672-675. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x>
100. Lee, H. Y., Zhou, K., Smith, A. M., Noland, C. L., & Doudna, J. A. (2013). Differential roles of human Dicer-binding proteins TRBP and PACT in small RNA processing. *Nucleic Acids Res*, 41(13), 6568-6576. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt361>
101. Lee, L. J., Ratner, E., Uduman, M., Winter, K., Boeke, M., Greven, K. M., King, S., Burke, T. W., Underhill, K., Kim, H., Boulware, R. J., Yu, H., Parkash, V., Lu, L., Gaffney, D., Dicker, A. P., & Weidhaas, J. (2014). The KRAS-variant and miRNA expression in RTOG endometrial cancer clinical trials 9708 and 9905. *PLoS One*, 9(4), e94167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094167>
102. Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843-854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-y)
103. Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S., & Kim, V. N. (2002). MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *Embo j*, 21(17), 4663-4670. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf476>

104. Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H., & Kim, V. N. (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *Embo j*, 23(20), 4051-4060. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600385>
105. Leung, A. K., Vyas, S., Rood, J. E., Bhutkar, A., Sharp, P. A., & Chang, P. (2011). Poly(ADP-ribose) regulates stress responses and microRNA activity in the cytoplasm. *Mol Cell*, 42(4), 489-499. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.04.015>
106. Li, L. C. (2014). Chromatin remodeling by the small RNA machinery in mammalian cells. *Epigenetics*, 9(1), 45-52. <https://doi.org/10.4161/epi.26830>
107. Li, M., Peng, J., Shi, Y., & Sun, P. (2020). miR-92a promotes progesterone resistance in endometriosis through PTEN/AKT pathway. *Life Sci*, 242, 117190. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117190>
108. Li, R., Qiao, J., Wang, L., Li, L., Zhen, X., Liu, P., & Zheng, X. (2011). MicroRNA array and microarray evaluation of endometrial receptivity in patients with high serum progesterone levels on the day of hCG administration. *Reprod Biol Endocrinol*, 9, 29. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-29>
109. Li, Y., Bian, Y., Wang, K., & Wan, X. P. (2019). POLE mutations improve the prognosis of endometrial cancer via regulating cellular metabolism through AMF/AMFR signal transduction. *BMC Med Genet*, 20(1), 202. <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0936-2>
110. Ling, H., Fabbri, M., & Calin, G. A. (2013). MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nat Rev Drug Discov*, 12(11), 847-865. <https://doi.org/10.1038/nrd4140>
111. Liu, P., Qi, M., Ma, C., Lao, G., Liu, Y., Liu, Y., & Liu, Y. (2013). Let7a inhibits the growth of endometrial carcinoma cells by targeting Aurora-B. *FEBS Lett*, 587(16), 2523-2529. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.05.065>
112. Liu, X., Zhang, Z., Sun, L., Chai, N., Tang, S., Jin, J., Hu, H., Nie, Y., Wang, X., Wu, K., Jin, H., & Fan, D. (2011). MicroRNA-499-5p promotes cellular invasion and tumor metastasis in colorectal cancer by targeting FOXO4 and PDCD4. *Carcinogenesis*, 32(12), 1798-1805. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr213>
113. Liu, Y., Patel, L., Mills, G. B., Lu, K. H., Sood, A. K., Ding, L., Kucherlapati, R., Mardis, E. R., Levine, D. A., Shmulevich, I., Broaddus, R. R., & Zhang, W. (2014). Clinical

- significance of CTNNB1 mutation and Wnt pathway activation in endometrioid endometrial carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 106(9). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju245>
- 114.** Liu, Z., Jin, Z. Y., Liu, C. H., Xie, F., Lin, X. S., & Huang, Q. (2015). MicroRNA-21 regulates biological behavior by inducing EMT in human cholangiocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(5), 4684-4694.
- 115.** Lu, J., Fu, Y., Kumar, S., Shen, Y., Zeng, K., Xu, A., Carthew, R., & Wu, C. I. (2008). Adaptive evolution of newly emerged micro-RNA genes in *Drosophila*. *Mol Biol Evol*, 25(5), 929-938. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn040>
- 116.** Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B. L., Mak, R. H., Ferrando, A. A., Downing, J. R., Jacks, T., Horvitz, H. R., & Golub, T. R. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435(7043), 834-838. <https://doi.org/10.1038/nature03702>
- 117.** Matsui, M., Li, L., Janowski, B. A., & Corey, D. R. (2015). Reduced Expression of Argonaute 1, Argonaute 2, and TRBP Changes Levels and Intracellular Distribution of RNAi Factors. *Sci Rep*, 5, 12855. <https://doi.org/10.1038/srep12855>
- 118.** Matsuyama, T., Kandimalla, R., Ishikawa, T., Takahashi, N., Yamada, Y., Yasuno, M., Kinugasa, Y., Hansen, T. F., Fakhri, M., Uetake, H., Györfy, B., & Goel, A. (2020). A novel mesenchymal-associated transcriptomic signature for risk-stratification and therapeutic response prediction in colorectal cancer. *Int J Cancer*, 147(11), 3250-3261. <https://doi.org/10.1002/ijc.33129>
- 119.** Medley, J. C., Panzade, G., & Zinovyeva, A. Y. (2021). microRNA strand selection: Unwinding the rules. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 12(3), e1627. <https://doi.org/10.1002/wrna.1627>
- 120.** Meister, G. (2013). Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nat Rev Genet*, 14(7), 447-459. <https://doi.org/10.1038/nrg3462>
- 121.** Mestdagh, P., Boström, A. K., Impens, F., Fredlund, E., Van Peer, G., De Antonellis, P., von Stedingk, K., Ghesquière, B., Schulte, S., Dews, M., Thomas-Tikhonenko, A., Schulte, J. H., Zollo, M., Schramm, A., Gevaert, K., Axelson, H., Speleman, F., & Vandesompele, J. (2010). The miR-17-92 microRNA cluster regulates multiple components of the TGF- β pathway in neuroblastoma. *Mol Cell*, 40(5), 762-773. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.11.038>

- 122.** Meyer, L. A., Broaddus, R. R., & Lu, K. H. (2009). Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control*, *16*(1), 14-22. <https://doi.org/10.1177/107327480901600103>
- 123.** Misso, G., Di Martino, M. T., De Rosa, G., Farooqi, A. A., Lombardi, A., Campani, V., Zarone, M. R., Gullà, A., Tagliaferri, P., Tassone, P., & Caraglia, M. (2014). Mir-34: a new weapon against cancer? *Mol Ther Nucleic Acids*, *3*(9), e194. <https://doi.org/10.1038/mtna.2014.47>
- 124.** Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L., Peterson, A., Noteboom, J., O'Briant, K. C., Allen, A., Lin, D. W., Urban, N., Drescher, C. W., Knudsen, B. S., Stirewalt, D. L., Gentleman, R., Vessella, R. L., Nelson, P. S., Martin, D. B., & Tewari, M. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(30), 10513-10518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804549105>
- 125.** Miyoshi, T., Takeuchi, A., Siomi, H., & Siomi, M. C. (2010). A direct role for Hsp90 in pre-RISC formation in *Drosophila*. *Nat Struct Mol Biol*, *17*(8), 1024-1026. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1875>
- 126.** Modzelewski, A. J., Holmes, R. J., Hiltz, S., Grimson, A., & Cohen, P. E. (2012). AGO4 regulates entry into meiosis and influences silencing of sex chromosomes in the male mouse germline. *Dev Cell*, *23*(2), 251-264. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2012.07.003>
- 127.** Moga, M. A., Bălan, A., Dimienescu, O. G., Burtea, V., Dragomir, R. M., & Anastasiu, C. V. (2019). Circulating miRNAs as Biomarkers for Endometriosis and Endometriosis-Related Ovarian Cancer-An Overview. *J Clin Med*, *8*(5). <https://doi.org/10.3390/jcm8050735>
- 128.** Montagnana, M., Benati, M., Danese, E., Giudici, S., Perfranceschi, M., Ruzzenente, O., Salvagno, G. L., Bassi, A., Gelati, M., Paviati, E., Guidi, G. C., Franchi, M., & Lippi, G. (2017). Aberrant MicroRNA Expression in Patients With Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Cancer*, *27*(3), 459-466. <https://doi.org/10.1097/jgc.0000000000000913>
- 129.** Morimura, R., Komatsu, S., Ichikawa, D., Takeshita, H., Tsujiura, M., Nagata, H., Konishi, H., Shiozaki, A., Ikoma, H., Okamoto, K., Ochiai, T., Taniguchi, H., & Otsuji, E. (2011). Novel diagnostic value of circulating miR-18a in plasma of patients with

- pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 105(11), 1733-1740.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2011.453>
130. Motavaf, M., Safari, S., & Alavian, S. M. (2012). Therapeutic potential of RNA interference: a new molecular approach to antiviral treatment for hepatitis C. *J Viral Hepat*, 19(11), 757-765. <https://doi.org/10.1111/jvh.12006>
131. Mozos, A., Catasús, L., D'Angelo, E., Serrano, E., Espinosa, I., Ferrer, I., Pons, C., & Prat, J. (2014). The FOXO1-miR27 tandem regulates myometrial invasion in endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 45(5), 942-951.
<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.12.007>
132. Nagaraja, A. K., Andreu-Vieyra, C., Franco, H. L., Ma, L., Chen, R., Han, D. Y., Zhu, H., Agno, J. E., Gunaratne, P. H., DeMayo, F. J., & Matzuk, M. M. (2008). Deletion of Dicer in somatic cells of the female reproductive tract causes sterility. *Mol Endocrinol*, 22(10), 2336-2352. <https://doi.org/10.1210/me.2008-0142>
133. Nieto, M. A. (2009). Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. *Int J Dev Biol*, 53(8-10), 1541-1547.
<https://doi.org/10.1387/ijdb.072410mn>
134. Nieto, M. A., Huang, R. Y., Jackson, R. A., & Thiery, J. P. (2016). EMT: 2016. *Cell*, 166(1), 21-45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.028>
135. Nothnick, W. B. (2016). Non-coding RNAs in Uterine Development, Function and Disease. *Adv Exp Med Biol*, 886, 171-189. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7417-8_9
136. Nozawa, M., Miura, S., & Nei, M. (2010). Origins and evolution of microRNA genes in *Drosophila* species. *Genome Biol Evol*, 2, 180-189.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evq009>
137. Orellana, E. A., & Kasinski, A. L. (2015). MicroRNAs in Cancer: A Historical Perspective on the Path from Discovery to Therapy. *Cancers (Basel)*, 7(3), 1388-1405.
<https://doi.org/10.3390/cancers7030842>
138. Pan, J. L., Yuan, D. Z., Zhao, Y. B., Nie, L., Lei, Y., Liu, M., Long, Y., Zhang, J. H., Blok, L. J., Burger, C. W., & Yue, L. M. (2017). Progesterone-induced miR-133a inhibits the proliferation of endometrial epithelial cells. *Acta Physiol (Oxf)*, 219(3), 683-692.
<https://doi.org/10.1111/apha.12762>

- 139.** Park, M. S., Phan, H. D., Busch, F., Hinckley, S. H., Brackbill, J. A., Wysocki, V. H., & Nakanishi, K. (2017). Human Argonaute3 has slicer activity. *Nucleic Acids Res*, *45*(20), 11867-11877. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx916>
- 140.** Park, S. M., Gaur, A. B., Lengyel, E., & Peter, M. E. (2008). The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev*, *22*(7), 894-907. <https://doi.org/10.1101/gad.1640608>
- 141.** Park, V. S., & Pursell, Z. F. (2019). POLE proofreading defects: Contributions to mutagenesis and cancer. *DNA Repair (Amst)*, *76*, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.02.007>
- 142.** Pauli, A., Rinn, J. L., & Schier, A. F. (2011). Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis. *Nat Rev Genet*, *12*(2), 136-149. <https://doi.org/10.1038/nrg2904>
- 143.** Pecot, C. V., Rupaimoole, R., Yang, D., Akbani, R., Ivan, C., Lu, C., Wu, S., Han, H. D., Shah, M. Y., Rodriguez-Aguayo, C., Bottsford-Miller, J., Liu, Y., Kim, S. B., Unruh, A., Gonzalez-Villasana, V., Huang, L., Zand, B., Moreno-Smith, M., Mangala, L. S., . . . Sood, A. K. (2013). Tumour angiogenesis regulation by the miR-200 family. *Nat Commun*, *4*, 2427. <https://doi.org/10.1038/ncomms3427>
- 144.** Pei, T., Liu, C., Liu, T., Xiao, L., Luo, B., Tan, J., Li, X., Zhou, G., Duan, C., & Huang, W. (2018). miR-194-3p Represses the Progesterone Receptor and Decidualization in Eutopic Endometrium From Women With Endometriosis. *Endocrinology*, *159*(7), 2554-2562. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00374>
- 145.** Pillai, R. S., Bhattacharyya, S. N., & Filipowicz, W. (2007). Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? *Trends Cell Biol*, *17*(3), 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.12.007>
- 146.** Pursell, Z. F., Isoz, I., Lundström, E. B., Johansson, E., & Kunkel, T. A. (2007). Yeast DNA polymerase epsilon participates in leading-strand DNA replication. *Science*, *317*(5834), 127-130. <https://doi.org/10.1126/science.1144067>
- 147.** Qi, H. H., Ongusaha, P. P., Myllyharju, J., Cheng, D., Pakkanen, O., Shi, Y., Lee, S. W., Peng, J., & Shi, Y. (2008). Prolyl 4-hydroxylation regulates Argonaute 2 stability. *Nature*, *455*(7211), 421-424. <https://doi.org/10.1038/nature07186>
- 148.** Quévillon Huberdeau, M., Zeitler, D. M., Hauptmann, J., Bruckmann, A., Fressigné, L., Danner, J., Piquet, S., Strieder, N., Engelmann, J. C., Jannot, G.,

- Deutzmann, R., Simard, M. J., & Meister, G. (2017). Phosphorylation of Argonaute proteins affects mRNA binding and is essential for microRNA-guided gene silencing in vivo. *Embo j*, 36(14), 2088-2106. <https://doi.org/10.15252/emboj.201696386>
149. Reed, B. G., Babayev, S. N., Chen, L. X., Carr, B. R., Word, R. A., & Jimenez, P. T. (2018). Estrogen-regulated miRNA-27b is altered by bisphenol A in human endometrial stromal cells. *Reproduction*, 156(6), 559-567. <https://doi.org/10.1530/rep-18-0041>
150. Reha-Krantz, L. J. (2010). DNA polymerase proofreading: Multiple roles maintain genome stability. *Biochim Biophys Acta*, 1804(5), 1049-1063. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.06.012>
151. Robb, G. B., & Rana, T. M. (2007). RNA helicase A interacts with RISC in human cells and functions in RISC loading. *Mol Cell*, 26(4), 523-537. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.04.016>
152. Roncolato, F., Lindemann, K., Willson, M. L., Martyn, J., & Mileshekin, L. (2019). PI3K/AKT/mTOR inhibitors for advanced or recurrent endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 10(10), Cd012160. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012160.pub2>
153. Rupaimoole, R., & Slack, F. J. (2017). MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 16(3), 203-222. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.246>
154. Rybak, A., Fuchs, H., Hadian, K., Smirnova, L., Wulczyn, E. A., Michel, G., Nitsch, R., Krappmann, D., & Wulczyn, F. G. (2009). The let-7 target gene mouse lin-41 is a stem cell specific E3 ubiquitin ligase for the miRNA pathway protein Ago2. *Nat Cell Biol*, 11(12), 1411-1420. <https://doi.org/10.1038/ncb1987>
155. Salim, U., Kumar, A., Kulshreshtha, R., & Vivekanandan, P. (2021). Biogenesis, characterization, and functions of mirtrons. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, e1680. <https://doi.org/10.1002/wrna.1680>
156. Shah, V., & Shah, J. (2020). Recent trends in targeting miRNAs for cancer therapy. *J Pharm Pharmacol*, 72(12), 1732-1749. <https://doi.org/10.1111/jphp.13351>
157. Shang, C., Lu, Y. M., & Meng, L. R. (2012). MicroRNA-125b down-regulation mediates endometrial cancer invasion by targeting ERBB2. *Med Sci Monit*, 18(4), Br149-155. <https://doi.org/10.12659/msm.882617>

158. Shen, Y., Lu, L., Xu, J., Meng, W., Qing, Y., Liu, Y., Zhang, B., & Hu, H. (2013). Bortezomib induces apoptosis of endometrial cancer cells through microRNA-17-5p by targeting p21. *Cell Biol Int*, 37(10), 1114-1121. <https://doi.org/10.1002/cbin.10139>
159. Shmushkovich, T., Monopoli, K. R., Homsy, D., Leyfer, D., Betancur-Boissel, M., Khvorova, A., & Wolfson, A. D. (2018). Functional features defining the efficacy of cholesterol-conjugated, self-deliverable, chemically modified siRNAs. *Nucleic Acids Res*, 46(20), 10905-10916. <https://doi.org/10.1093/nar/gky745>
160. Sianou, A., Galyfos, G., Moragianni, D., Andromidas, P., Kaparos, G., Baka, S., & Kouskouni, E. (2015). The role of microRNAs in the pathogenesis of endometrial cancer: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet*, 292(2), 271-282. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3660-y>
161. Siemens, H., Jackstadt, R., Hüntten, S., Kaller, M., Menssen, A., Götz, U., & Hermeking, H. (2011). miR-34 and SNAIL form a double-negative feedback loop to regulate epithelial-mesenchymal transitions. *Cell Cycle*, 10(24), 4256-4271. <https://doi.org/10.4161/cc.10.24.18552>
162. Sin, T. K., Wang, F., Meng, F., Wong, S. C., Cho, W. C., Siu, P. M., Chan, L. W., & Yung, B. Y. (2016). Implications of MicroRNAs in the Treatment of Gefitinib-Resistant Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci*, 17(2), 237. <https://doi.org/10.3390/ijms17020237>
163. Slack, F. J., & Chinnaiyan, A. M. (2019). The Role of Non-coding RNAs in Oncology. *Cell*, 179(5), 1033-1055. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.017>
164. Sokol, N. S. (2012). Small temporal RNAs in animal development. *Current opinion in genetics & development*, 22(4), 368-373. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.04.001>
165. Sriramulu, S., Ramachandran, M., Subramanian, S., Kannan, R., Gopinath, M., Sollano, J., Bissi, L., Banerjee, A., Marotta, F., & Pathak, S. (2019). A review on role of ATM gene in hereditary transfer of colorectal cancer. *Acta Biomed*, 89(4), 463-469. <https://doi.org/10.23750/abm.v89i4.6095>
166. Srivastava, S. K., Ahmad, A., Zubair, H., Miree, O., Singh, S., Rocconi, R. P., Scalici, J., & Singh, A. P. (2017). MicroRNAs in gynecological cancers: Small molecules with big implications. *Cancer Lett*, 407, 123-138. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.011>

167. Su, H., Trombly, M. I., Chen, J., & Wang, X. (2009). Essential and overlapping functions for mammalian Argonautes in microRNA silencing. *Genes Dev*, 23(3), 304-317. <https://doi.org/10.1101/gad.1749809>
168. Tam, W. L., & Weinberg, R. A. (2013). The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med*, 19(11), 1438-1449. <https://doi.org/10.1038/nm.3336>
169. Tan, Z. Q., Liu, F. X., Tang, H. L., & Su, Q. (2010). [Expression and its clinical significance of hsa-miR-155 in serum of endometrial cancer]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 45(10), 772-774.
170. Tanos, V., Lingwood, L., & Balami, S. (2020). Junctional Zone Endometrium Morphological Characteristics and Functionality: Review of the Literature. *Gynecol Obstet Invest*, 85(2), 107-117. <https://doi.org/10.1159/000505650>
171. Thiery, J. P., Acloque, H., Huang, R. Y., & Nieto, M. A. (2009). Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 139(5), 871-890. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.007>
172. Toden, S., Zumwalt, T. J., & Goel, A. (2021). Non-coding RNAs and potential therapeutic targeting in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1875(1), 188491. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188491>
173. Toiyama, Y., Hur, K., Tanaka, K., Inoue, Y., Kusunoki, M., Boland, C. R., & Goel, A. (2014). Serum miR-200c is a novel prognostic and metastasis-predictive biomarker in patients with colorectal cancer. *Ann Surg*, 259(4), 735-743. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182a6909d>
174. Tolia, N. H., & Joshua-Tor, L. (2007). Slicer and the argonautes. *Nat Chem Biol*, 3(1), 36-43. <https://doi.org/10.1038/nchembio848>
175. Tovar-Camargo, O. A., Toden, S., & Goel, A. (2016). Exosomal microRNA Biomarkers: Emerging Frontiers in Colorectal and Other Human Cancers. *Expert Rev Mol Diagn*, 16(5), 553-567. <https://doi.org/10.1586/14737159.2016.1156535>
176. Tsujiura, M., Ichikawa, D., Komatsu, S., Shiozaki, A., Takeshita, H., Kosuga, T., Konishi, H., Morimura, R., Deguchi, K., Fujiwara, H., Okamoto, K., & Otsuji, E. (2010). Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer*, 102(7), 1174-1179. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605608>

- 177.** Tsujiura, M., Komatsu, S., Ichikawa, D., Shiozaki, A., Konishi, H., Takeshita, H., Moriumura, R., Nagata, H., Kawaguchi, T., Hirajima, S., Arita, T., Fujiwara, H., Okamoto, K., & Otsuji, E. (2015). Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*, *18*(2), 271-279. <https://doi.org/10.1007/s10120-014-0363-1>
- 178.** Tsukamoto, O., Miura, K., Mishima, H., Abe, S., Kaneuchi, M., Higashijima, A., Miura, S., Kinoshita, A., Yoshiura, K., & Masuzaki, H. (2014). Identification of endometrioid endometrial carcinoma-associated microRNAs in tissue and plasma. *Gynecol Oncol*, *132*(3), 715-721. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.01.029>
- 179.** Tsuruta, T., Kozaki, K., Uesugi, A., Furuta, M., Hirasawa, A., Imoto, I., Susumu, N., Aoki, D., & Inazawa, J. (2011). miR-152 is a tumor suppressor microRNA that is silenced by DNA hypermethylation in endometrial cancer. *Cancer Res*, *71*(20), 6450-6462. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-11-0364>
- 180.** Ueki, A., & Hirasawa, A. (2020). Molecular Features and Clinical Management of Hereditary Gynecological Cancers. *Int J Mol Sci*, *21*(24). <https://doi.org/10.3390/ijms21249504>
- 181.** Upadhyaya, P., Di Serafino, A., Sorino, L., Ballerini, P., Marchisio, M., Pierdomenico, L., Stuppia, L., & Antonucci, I. (2019). Genetic and epigenetic modifications induced by chemotherapeutic drugs: human amniotic fluid stem cells as an in-vitro model. *BMC Med Genomics*, *12*(1), 146. <https://doi.org/10.1186/s12920-019-0595-3>
- 182.** Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, *9*(6), 654-659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- 183.** Wang, H.-W., Noland, C., Siridechadilok, B., Taylor, D. W., Ma, E., Felderer, K., Doudna, J. A., & Nogales, E. (2009). Structural insights into RNA processing by the human RISC-loading complex. *Nature Structural & Molecular Biology*, *16*(11), 1148-1153. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1673>
- 184.** Wang, N., Guo, Y., Song, L., Tong, T., & Fan, X. (2022). Circular RNA intraflagellar transport 80 facilitates endometrial cancer progression through modulating miR-545-

- 3p/FAM98A signaling. *J Gynecol Oncol*, 33(1), e2.
<https://doi.org/10.3802/jgo.2022.33.e2>
- 185.** Wang, T., Zhang, X., Obijuru, L., Laser, J., Aris, V., Lee, P., Mittal, K., Soteropoulos, P., & Wei, J. J. (2007). A micro-RNA signature associated with race, tumor size, and target gene activity in human uterine leiomyomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 46(4), 336-347. <https://doi.org/10.1002/gcc.20415>
- 186.** Weinmann, L., Höck, J., Ivacevic, T., Ohrt, T., Mütze, J., Schwille, P., Kremmer, E., Benes, V., Urlaub, H., & Meister, G. (2009). Importin 8 is a gene silencing factor that targets argonaute proteins to distinct mRNAs. *Cell*, 136(3), 496-507. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.12.023>
- 187.** Wen, D., Danquah, M., Chaudhary, A. K., & Mahato, R. I. (2015). Small molecules targeting microRNA for cancer therapy: Promises and obstacles. *J Control Release*, 219, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.011>
- 188.** Widodo, Djati, M. S., & Rifa'i, M. (2016). Role of MicroRNAs in carcinogenesis that potential for biomarker of endometrial cancer. *Ann Med Surg (Lond)*, 7, 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2016.01.091>
- 189.** Wightman, B., Ha, I., & Ruvkun, G. (1993). Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75(5), 855-862. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90530-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90530-4)
- 190.** Winata, P., Williams, M., McGowan, E., Nassif, N., van Zandwijk, N., & Reid, G. (2017). The analysis of novel microRNA mimic sequences in cancer cells reveals lack of specificity in stem-loop RT-qPCR-based microRNA detection. *BMC Res Notes*, 10(1), 600. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2930-0>
- 191.** Winkle, M., El-Daly, S. M., Fabbri, M., & Calin, G. A. (2021). Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov*, 20(8), 629-651. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00219-z>
- 192.** Wu, W., Lin, Z., Zhuang, Z., & Liang, X. (2009). Expression profile of mammalian microRNAs in endometrioid adenocarcinoma. *Eur J Cancer Prev*, 18(1), 50-55. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e328305a07a>
- 193.** Wu, Y., Xiao, Y., Ding, X., Zhuo, Y., Ren, P., Zhou, C., & Zhou, J. (2011). A miR-200b/200c/429-binding site polymorphism in the 3' untranslated region of the AP-2 α

- gene is associated with cisplatin resistance. *PLoS One*, 6(12), e29043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029043>
- 194.** Xiao, L., Pei, T., Huang, W., Zhou, M., Fu, J., Tan, J., Liu, T., Song, Y., & Yang, S. (2020). MicroRNA22-5p targets ten-eleven translocation and regulates estrogen receptor 2 expression in infertile women with minimal/mild endometriosis during implantation window. *PLoS One*, 15(7), e0234086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234086>
- 195.** Xie, Y., Wang, Y. L., Yu, L., Hu, Q., Ji, L., Zhang, Y., & Liao, Q. P. (2011). Metformin promotes progesterone receptor expression via inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) in endometrial cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 126(3-5), 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.12.006>
- 196.** Xu, X., Liu, T., Wang, Y., Fu, J., Yang, Q., Wu, J., & Zhou, H. (2019). miRNA-mRNA Associated With Survival in Endometrial Cancer. *Front Genet*, 10, 743. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00743>
- 197.** Yan, G. J., Yu, F., Wang, B., Zhou, H. J., Ge, Q. Y., Su, J., Hu, Y. L., Sun, H. X., & Ding, L. J. (2014). MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of endometrial cancer cells by suppression of Cyclin D1 and CDK1. *Cancer Lett*, 345(1), 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.11.023>
- 198.** Yanaka, Y., Muramatsu, T., Uetake, H., Kozaki, K., & Inazawa, J. (2015). miR-544a induces epithelial-mesenchymal transition through the activation of WNT signaling pathway in gastric cancer. *Carcinogenesis*, 36(11), 1363-1371. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv106>
- 199.** Yang, J. S., & Lai, E. C. (2011). Alternative miRNA biogenesis pathways and the interpretation of core miRNA pathway mutants. *Mol Cell*, 43(6), 892-903. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.07.024>
- 200.** Yanokura, M., Banno, K., Iida, M., Irie, H., Umene, K., Masuda, K., Kobayashi, Y., Tominaga, E., & Aoki, D. (2015). MicroRNAs in endometrial cancer: recent advances and potential clinical applications. *Excli j*, 14, 190-198. <https://doi.org/10.17179/excli2014-590>
- 201.** Yao, B., Li, S., Lian, S. L., Fritzler, M. J., & Chan, E. K. (2011). Mapping of Ago2-GW182 functional interactions. *Methods Mol Biol*, 725, 45-62. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-046-1_4

- 202.** Ye, X., Huang, N., Liu, Y., Paroo, Z., Huerta, C., Li, P., Chen, S., Liu, Q., & Zhang, H. (2011). Structure of C3PO and mechanism of human RISC activation. *Nat Struct Mol Biol*, 18(6), 650-657. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2032>
- 203.** Yee, P. T., & Poh, C. L. (2016). Development of Novel miRNA-based Vaccines and Antivirals against Enterovirus 71. *Curr Pharm Des*, 22(44), 6694-6700. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160720165613>
- 204.** Yoda, M., Kawamata, T., Paroo, Z., Ye, X., Iwasaki, S., Liu, Q., & Tomari, Y. (2010). ATP-dependent human RISC assembly pathways. *Nat Struct Mol Biol*, 17(1), 17-23. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1733>
- 205.** Yu, S., Liu, Y., Wang, J., Guo, Z., Zhang, Q., Yu, F., Zhang, Y., Huang, K., Li, Y., Song, E., Zheng, X. L., & Xiao, H. (2012). Circulating microRNA profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(6), 2084-2092. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3059>
- 206.** Zeng, Y., & Cullen, B. R. (2004). Structural requirements for pre-microRNA binding and nuclear export by Exportin 5. *Nucleic Acids Res*, 32(16), 4776-4785. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh824>
- 207.** Zhai, H., Karaayvaz, M., Dong, P., Sakuragi, N., & Ju, J. (2013). Prognostic significance of miR-194 in endometrial cancer. *Biomark Res*, 1, 12. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-1-12>
- 208.** Zhang, H., Wang, Y., Dou, J., Guo, Y., He, J., Li, L., Liu, X., Chen, R., Deng, R., Huang, J., Xie, R., Zhao, X., & Yu, J. (2019). Acetylation of AGO2 promotes cancer progression by increasing oncogenic miR-19b biogenesis. *Oncogene*, 38(9), 1410-1431. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0530-7>
- 209.** Zhang, Y., & Weinberg, R. A. (2018). Epithelial-to-mesenchymal transition in cancer: complexity and opportunities. *Front Med*, 12(4), 361-373. <https://doi.org/10.1007/s11684-018-0656-6>
- 210.** Zhou, H., Xu, X., Xun, Q., Yu, D., Ling, J., Guo, F., Yan, Y., Shi, J., & Hu, Y. (2012). microRNA-30c negatively regulates endometrial cancer cells by targeting metastasis-associated gene-1. *Oncol Rep*, 27(3), 807-812. <https://doi.org/10.3892/or.2011.1574>
- 211.** Zhou, M., Fu, J., Xiao, L., Yang, S., Song, Y., Zhang, X., Feng, X., Sun, H., Xu, W., & Huang, W. (2016). miR-196a overexpression activates the MEK/ERK signal and represses the progesterone receptor and decidualization in eutopic endometrium from

women with endometriosis. *Hum Reprod*, 31(11), 2598-2608.

<https://doi.org/10.1093/humrep/dew223>

212. Zimmerman, A. L., & Wu, S. (2011). MicroRNAs, cancer and cancer stem cells.

Cancer Lett, 300(1), 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.09.019>

213. Μανου, Μ. (2012). Μοριακά μονοπάτια ενδομητρικού καρκίνου. Βιολογική συμπεριφορά και θεραπευτική αντιμετώπιση. In ΝΚΥΑ (Ed.), *Διπλωματική Εργασία*

Πηγές Εικόνων

Εικόνα 1.

Weiss, CN., Ito, K., A., (2017) Macro View of MicroRNAs: The Discovery of MicroRNAs and Their Role in Hematopoiesis and Hematologic Disease. *Int Rev Cell Mol Biol.*;334:99-175.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5663456/#!po=1.36364>

Εικόνα 2, 4.

Pichon, Ch., Abdallah, F. (2019). MicroRNAs in Skin Biology: Biogenesis, Regulations and Functions in Homeostasis and Diseases, *Immunome Research*, 15. 10.35248/1745-7580.19.15.167. <https://www.longdom.org/open-access/micrnas-in-skin-biology-biogenesis-regulations-and-functions-in-homeostasis-and-diseases-44136.html>

Εικόνα 3.

Pichler, M., Calin, G., (2015) MicroRNAs in cancer: from developmental genes in worms to their clinical application in patients. *Br J Cancer* **113**, 569–573,

<https://www.nature.com/articles/bjc2015253#citeas>

Εικόνα 5.

Kim, V. N., Han, J., & Siomi, M. C. (2009). Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(2), 126-139. <https://doi.org/10.1038/nrm2632>

Εικόνα 6.

He, J., Zhao, J., Zhu W., Qi, D., Wang, L., Sun, J., Wang, B., Ma, X., Dai, Q., Yu, X. (2016) MicroRNA biogenesis pathway genes polymorphisms and cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ.*, 7;4: e2706. <https://peerj.com/articles/2706/>

Εικόνα 7.

Salim, U., Kumar, A., Kulshreshtha, R., Vivekanandan, P., (2022) Biogenesis, characterization, and functions of mirtrons. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. Jan;13(1): e1680,

<https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/wrna.1680>

Εικόνα 8.

Felekis, K., Touvana, E., Stefanou, Ch., Deltas, C., (2010) microRNAs: a newly described class of encoded molecules that play a role in health and disease. *Hippokratia.*;14(4):236-40. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21311629/>

Εικόνα 9.

Wang, H.-W., Noland, C., Siridechadilok, B., Taylor, D. W., Ma, E., Felderer, K., Doudna, J. A., & Nogales, E. (2009). Structural insights into RNA processing by the human RISC-loading complex. *Nature Structural & Molecular Biology*, 16(11), 1148-1153.

<https://doi.org/10.1038/nsmb.1673>

Εικόνα 10.

Faehnle, C. R., Elkayam, E., Haase, A. D., Hannon, G. J., & Joshua-Tor, L. (2013). The making of a slicer: activation of human Argonaute-1. *Cell Rep*, 3(6), 1901-1909.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.05.033>

Εικόνα 11.

Joshua-Tor, L., 2022, Cold Spring Harbor Laboratory

<https://www.eurekalert.org/multimedia/864264>

Εικόνα 12.

<http://users.sch.gr/ipap/Ellinikos%20Politismos/AR/ar.ag/Diosphos-Painter13.htm>

Εικόνα 13.

https://stock.adobe.com/gr_en/images/biology-diagram-show-infographic-of-cell-cycle-the-growth-dna-replication-and-mitosis-phase-of-cell-and-chromosome-in-nucleus/374112049

Εικόνα 14.

Chan, S.-H., & Wang, L.-H. (2015). Regulation of cancer metastasis by microRNAs. *Journal of Biomedical Science*, 22(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12929-015-0113-7>

Εικόνα 15.

Joshi, M. (2014). Micro RNA: Biomarker for Cancer Diagnosis and Prognosis.

https://www.researchgate.net/publication/274373180_Micro_RNA_Biomarker_for_Cancer_Diagnosis_and_Prognosis

Πίνακας 1.

Lee, YS, Dutta, A., (2009) MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol.*;4:199-227.doi:

10.1146/annurev.pathol.4.110807.092222,

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2769253/>

Εικόνα 16.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Endometrium>

Εικόνα 17.

Kuokkanen, S., Chen, B., Ojalvo, L., Benard, L., Santoro, N., & Pollard, J. W. (2010). Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. *Biol Reprod*, 82(4), 791-801.

<https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.081059>

Εικόνα 18.

<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometrial-cancer/symptoms-causes/syc-20352461>

Εικόνα 19.

<https://seer.cancer.gov/statfacts/>

Εικόνα 20.

<https://seer.cancer.gov/statfacts/>

Εικόνα 21.

Yuk, J., (2016) The incidence rates of endometrial hyperplasia and endometrial cancer: a four-year population-based study. *PeerJ* 4:e2374 <https://doi.org/10.7717/peerj.2374>

Εικόνα 22.

<https://www.cancerresearchuk.org/>

Εικόνα 23, 24.

Kumar, R., Paul, A. M., Rameshwar, P., & Pillai, M. R. (2019). Epigenetic Dysregulation at the Crossroad of Women's Cancer. *Cancers (Basel)*, 11(8).

<https://doi.org/10.3390/cancers11081193>

Εικόνα 25.

<https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html>

Εικόνα 26.

Murali, R., Soslow, RA, Weigelt, B., (2014) Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol.*;15(7):e268-78,

[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(13\)70591-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(13)70591-6/fulltext)

Εικόνα 27.

Dixon, D., Vidal, JD., Leininger, JR, Jokinen, MP., (2018) Chapter 27 - Oviduct, Uterus, and Vagina, Editor(s): Andrew W. Suttie, *Boorman's Pathology of the Rat (Second Edi-*

tion), Academic Press, Pages 537-559, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391448-4.00027-7>

Εικόνα 28.

<https://www.researchgate.net/publication/325747877> Three primary synchronous malignancies of the uterus cervix and fallopian tube A case report/figures?lo=1

Εικόνα 29.

Bansal, N., Yendluri, V., & Wenham, R.M. (2009). The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer control: journal of the Moffitt Cancer Center*, 16 1, 8-13 .

<https://www.semanticscholar.org/paper/The-molecular-biology-of-endometrial-cancers-and-Bansal-Yendluri/6d2b8e654878001ad2ef2810c6d0d39b152d0a97>

Banno, K., Nogami, Y., Kisu, I., Yanokura, M., Umene, K., Masuda, K., Kobayashi, Y., Yamagami, W., Susumu, N., & Aoki, D. (2013). Candidate Biomarkers for Genetic and Clinicopathological Diagnosis of Endometrial Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 12123 – 12137 <https://www.semanticscholar.org/paper/Candidate-Biomarkers-for-Genetic-and-Diagnosis-of-Banno-Nogami/68c959213bff7e7616f73750d9b1def5dc2dbd37>

Εικόνα 30.

Boren, T., Xiong, Y., Hakam, A., Wenham, R., Apte, S., Wei, Z., Kamath, S., Chen, DT., Dressman, H., Lancaster, JM. (2008) MicroRNAs and their target messenger RNAs associated with endometrial carcinogenesis. *Gynecol Oncol.*;110(2):206-15.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S009082580800200X#section-cited-by>

Εικόνα 31.

Liu, P., Qi, M., Ma, C., Lao, G., Liu, Y., Liu, Y., & Liu, Y. (2013). Let7a inhibits the growth of endometrial carcinoma cells by targeting Aurora-B. *FEBS Lett*, 587(16), 2523-2529.

<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.05.065>

Εικόνα 32.

Yan, G. J., Yu, F., Wang, B., Zhou, H. J., Ge, Q. Y., Su, J., Hu, Y. L., Sun, H. X., & Ding, L. J. (2014). MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of endometrial cancer cells by suppression of Cyclin D1 and CDK1. *Cancer Lett*, 345(1), 39-47.

<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.11.023>

Εικόνα 33.

Widodo, Djati, M. S., & Rifa'i, M. (2016). Role of MicroRNAs in carcinogenesis that potential for biomarker of endometrial cancer. *Ann Med Surg (Lond)*, 7, 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2016.01.091>

Εικόνα 34.

Montagnana, M., Benati, M., Danese, E., Giudici, S., Perfranceschi, M., Ruzzenete, O., Salvagno, G. L., Bassi, A., Gelati, M., Paviati, E., Guidi, G. C., Franchi, M., & Lippi, G. (2017). Aberrant MicroRNA Expression in Patients With Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 27(3), 459-466. <https://doi.org/10.1097/igc.0000000000000913>

Εικόνα 35.

Kong, Y. W., Ferland-McCollough, D., Jackson, T. J., & Bushell, M. (2012). microRNAs in cancer management. *Lancet Oncol*, 13(6), e249-258. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70073-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70073-6)

Εικόνα 36.

Tsukamoto, O., Miura, K., Mishima, H., Abe, S., Kaneuchi, M., Higashijima, A., Miura, S., Kinoshita, A., Yoshiura, K., & Masuzaki, H. (2014). Identification of endometrioid endometrial carcinoma-associated microRNAs in tissue and plasma. *Gynecol Oncol*, 132(3), 715-721. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.01.029>

Εικόνα 37.

Klicka, K., Grzywa, T. M., Klinke, A., Mielniczuk, A., & Włodarski, P. K. (2021). The Role of miRNAs in the Regulation of Endometrial Cancer Invasiveness and Metastasis-A Systematic Review. *Cancers (Basel)*, 13(14). <https://doi.org/10.3390/cancers13143393>

Εικόνα 38.

Chang, L., Graham, PH., Hao, J., Bucci, J., Cozzi, PJ., Kearsley, JH., Li, Y. (2014) Emerging roles of radioresistance in prostate cancer metastasis and radiation therapy. *Cancer Metastasis Rev.*;33(2-3):469-96. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10555-014-9493-5>

Πίνακας 2,3

Sianou, A., Galyfos, G., Moragianni, D., Andromidas, P., Kaparos, G., Baka, S., & Kouskouni, E. (2015). The role of microRNAs in the pathogenesis of endometrial

cancer: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet*, 292(2), 271-282.

<https://doi.org/10.1007/s00404-015-3660-y>