



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«SNPS ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ MICRORNAS :
ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΕ ΠΑΘΗΣΕΙΣ»**

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ : ΖΗΣΗ ΑΝΝΑ
ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΣ ΤΙΤΛΟΣ : ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΖΕΤΗ ΜΑΡΙΑ Επίκουρη Καθηγήτρια Γενετικής ΕΚΠΑ (επιβλέπουσα)
ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ Καθηγήτρια Γενετικής Παν/μιου Θεσσαλίας (Μέλος)
ΔΗΜΑΣ ΚΩΝ/ΝΟΣ Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας Παν/μιου Θεσσαλίας (Μέλος)

ΛΑΡΙΣΑ, ΕΤΟΣ 2015



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ»

**«SNPS IN GENES ENCODING MICRORNAS:
CONTRIBUTION TO DISEASES "**

Περίληψη

Τα miRNA αποτελούν μια μεγάλη οικογένεια μικρών μονόκλωνων μη κωδικών μορίων που συμμετέχουν σε πολλές σημαντικές κυτταρικές διεργασίες καθώς επίσης και στην παθοφυσιολογία πολλών ασθενειών. Τα μικρά αυτά μόρια μπορούν να συνδεθούν στην 3'UTR περιοχή mRNA στόχων και να επηρεάσουν τη μετάφραση τους ρυθμίζοντας έτσι την ανάπτυξη των κυττάρων, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και την ογκογένεση. Τα SNPs είναι γενετικοί πολυμορφισμοί που αποτελούν μεμονωμένες αλλαγές ενός μόνο νουκλεοτιδίου, εντοπίζονται στο γονιδίωμα και μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση πολλών ανθρώπινων γονιδίων. SNPs σε miRNA (mirSNPs) έχουν βρεθεί και μελετηθεί με σκοπό την κατανόηση της βιολογίας πολλών ασθενειών. Τα SNPs μπορεί να βρίσκονται τόσο σε πρόδρομα μόρια των miRNA, σε ένζυμα του μονοπατιού της βιοσύνθεσης των miRNA όσο και στις 3'UTR περιοχές σύνδεσης των mRNA στόχων. Κατανοώντας τον ρόλο των πολυμορφισμών των miRNA και τη συμβολή τους σε διάφορες ασθένειες αντιλαμβανόμαστε ότι τα mirSNPs αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο για την φαρμακογενετική, την επιδημιολογία αλλά και την εξατομικευμένη θεραπεία ασθενειών. Επίσης τα SNPs σε miRNA μπορούν να αποτελέσουν νέους βιοδείκτες για τη διάγνωση πολλών ασθενειών όπως και του καρκίνου, καθώς και για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Η ανασκόπηση αυτή θα επικεντρωθεί σε μελέτες που αφορούν SNPs σε miRNA και συσχετίσεις τους με πολλαπλούς τύπους καρκίνων και σε πολλές άλλες ασθένειες.

Abstract

The miRNA are a large family of small single-stranded non-coding molecules involved in many important cellular processes as well as in the pathophysiology of many diseases. These small molecules can be linked to the target mRNA 3UTR region and affect the translation of the thus regulating cell growth, differentiation, apoptosis, and tumorigenesis. The SNPs are genetic polymorphisms are individual changes to single nucleotide, identified in the genome, and can affect the expression of many human genes. SNPs in miRNA (mirSNPs) have been found and studied in order to understand the biology of several diseases. The SNPs can be located in both precursors of miRNA, a biosynthesis pathway enzymes miRNA and in 3UTR binding regions of mRNA targets. Understanding the role of polymorphisms of miRNA and their contribution to various diseases perceive that mirSNPs constitute a promising field of pharmacogenetics, epidemiology and the personalized treatment of diseases. Moreover the SNPs in miRNA can form new biomarkers for the diagnosis of many diseases like cancer, and the treatment efficacy. This review will focus on studies of

SNPs in miRNA and their correlations with multiple types of cancer and many other diseases

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΧΟΜΕΝΩΝ.....	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	5
1.1 ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ MIRNA.....	5
1.2 SNPS.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	12
2.1 MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	12
2.2 MIRNA ΩΣ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΩΣ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΣΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ.....	13
2.3 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	17
3.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ.....	17
3.2 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ.....	22
3.3 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΙ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....	23
3.4 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ.....	26
3.5 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	28
3.6 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....	30
3.7 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ.....	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	33
4.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ.....	33
4.2 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΩΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ.....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	36
5.1 MIRNA ΚΑΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ.....	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.....	38
6.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....	39
7.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΓΙΑ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΝΟΣΟ.....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8.....	41
8.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9.....	41
9.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ.....	41
ΚΑΦΑΛΑΙΟ 10.....	42
10.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ.....	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11.....	43
11.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ.....	43
ΕΠΙΛΟΓΟΣ.....	44
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	46

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρκετά διαφορετικά είδη μικρών μη κωδικών μορίων φαίνεται ότι παίζουν ρόλο σε πολλές κυτταρικές διαδικασίες. Αυτά είναι τα siRNAs (small interference RNAs), τα micro RNAs (miRNAs), τα rasiRNAs (repeat-associated siRNAs) και τα piRNAs (P-element induced wimpy testis interacting RNAs) [1]. Ο ρόλος τους είναι να προκαλούν καταστολή της έκφρασης των γονιδίων στόχων σε φυτά, ζώα και ανθρώπους μέσω αυστηρών μηχανισμών ρύθμισης [1]. Τα μικρά αυτά μόρια είτε κωδικοποιούνται από το γονιδίωμα είτε παράγονται συνθετικά *in vitro* [1]. Ενώ η γονιδιακή έκφραση μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες, η μετα-μεταγραφική ρύθμιση του γονιδίου που αφορά τα microRNAs (miRNAs) είναι ιδιαίτερα σημαντική, επειδή το εύρος της δράσης τους επηρεάζεται από την αλληλεπίδραση τους με τα γονίδια στόχους [2]. Όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι miRNAs είναι καθοριστικοί ρυθμιστές της ανάπτυξης και της κυτταρικής ομοιόστασης μέσω του ελέγχου που ασκούν σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες [2]. Κατά συνέπεια, η απορρύθμιση των λειτουργιών των miRNA μπορεί να οδηγήσει σε πολλές ασθένειες του ανθρώπου [2].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 Βιογένεση των miRNA

Τα microRNAs αποτελούν μια ομάδα από μικρά μη κωδικά μόρια RNA μεγέθους περίπου 19-22 νουκλεοτιδίων και βρίσκονται συχνά σε μονοκύτταρους οργανισμούς, σε φυτά καθώς και σε ανθρώπινα κύτταρα. Πρόσφατα έχουν βρεθεί και στο γονιδίωμα αρκετών ιών. Στους ανθρώπους πάνω από 2500 miRNA έχουν ήδη βρεθεί [3]. Το πρώτο miRNA, το *lin-4*, βρέθηκε στο σκώληκα *Caenorhabditis elegans*, το 1993 και θεωρήθηκε ως ένας ενδοκυττάριος ρυθμιστής της κυτταρικής ανάπτυξης [4]. Αυτό το μικρό μόριο, δεν κωδικοποιεί κάποια πρωτεΐνη αλλά βρέθηκε ότι επηρέαζε την έκφραση του γονιδίου *lin-14*, αλληλεπιδρώντας άμεσα με την 3'UTR περιοχή του [5]. Το *lin-14* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία συμμετέχει στη κυτταρική ανάπτυξη [5]. Σημαντικές ανακαλύψεις για την κατανόηση της δράσης των miRNA έγιναν επτά χρόνια αργότερα με την εύρεση του miRNA *let7* [6]. Βρέθηκε ότι η αλληλουχία του *let 7* ήταν εξελικτικά συντηρημένη σε διάφορους οργανισμούς και επηρέαζε την ανάπτυξη των προνύμφων του *C. Elegans*, υποδεικνύοντας ότι τα μικρά αυτά μόρια παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων [6]. Βρέθηκε επίσης ότι τα 10 μέλη της οικογένειας του *let 7* εκφράζονται από 13 διαφορετικούς γονιδιακούς τόπους και πιθανοί τους στόχοι είναι τα γονίδια *K-RAS*, *MYC* και *HMGA-2* [7]. Τα συγκεκριμένα ευρήματα πυροδότησαν ένα μεγάλο αριθμό μελετών στον τομέα αυτό.

Με βάση το μεγάλο αριθμό γονιδίων που κωδικοποιούν για τα miRNA καθώς και την ικανότητα τους να δρουν συνεργατικά εναντίον των γονιδίων στόχων, είναι

πλέον γνωστό ότι τα miRNA συμμετέχουν σε πολλές πτυχές της κυτταρικής βιολογίας όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, ο μεταβολισμός, η ανάπτυξη, η απόπτωση αλλά και η καρκινογένεση και η φλεγμονή [8].

Οι περιοχές κωδικοποίησης των miRNAs βρίσκονται μέσα στα εξώνια ή στα ιντρόνια γονιδίων που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες αλλά και σε αυτά τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Η πλειοψηφία των γονιδίων που κωδικοποιούν τα miRNA βρίσκονται σε περιοχές μακριά από τα υπόλοιπα γονίδια, γεγονός που υποδηλώνει ότι μεταγράφονται ανεξάρτητα. Ωστόσο υπάρχει και μια μικρή μειοψηφία γονιδίων που κωδικοποιούν για miRNAs που βρίσκονται ενδογονιδιακά και μεταγράφονται ταυτόχρονα με το γονίδιο. Η πλειοψηφία των miRNAs μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II και υφίστανται την ίδια επεξεργασία όπως τα υπόλοιπα mRNA δηλαδή την προσθήκη της 5'καλύπτρας, το μάτισμα και την πολυαδενυλίωση. Ωστόσο μερικά miRNAs ιδίως αυτά που βρίσκονται κοντά σε αλληλουχίες Alu μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση III [9].

Πρωτίστως τα miRNAs μεταγράφονται στον πυρήνα από την RNA πολυμεράση II σε μεγάλα μετάγραφα των 70-100 περίπου νουκλεοτιδίων, τα pri-miRNAs. Τα pri-miRNAs υφίστανται τη δράση του ετεροδιμερούς Drosha/ DGCR8 και μετατρέπονται στα pre-miRNAs μήκους 60-70 νουκλεοτιδίων [9]. Στη συνέχεια εξέρχονται από το πυρήνα με τη βοήθεια της εξπορτίνης 5 και της Ran-GTP η οποία αναγνωρίζει 2 νουκλεοτίδια στο 3' άκρο του pre-miRNA. Εκεί υφίστανται τη δράση του πρωτεϊνικού συμπλόκου Dicer και μετατρέπονται σε δίκλωνα μόρια 22 νουκλεοτιδίων. Η ανθρώπινη Dicer αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες TRBP και PACT [9]. Η δίκλωνη αλυσίδα ξεδιπλώνεται από μια RNA ελικάση. Η μία αλυσίδα του δίκλωνου μορίου παραμένει ως ώριμο miRNA ενώ η άλλη αποδομείται [10]. Το ώριμο μόριο συνδέεται με το σύμπλοκο RISC με τη βοήθεια των πρωτεϊνών αργοναυτών (Ago 1-4) και κατευθύνεται προς το mRNA στόχο, οδηγώντας τελικά σε αποδόμηση ή μεταγραφική καταστολή του mRNA ανάλογα με το βαθμό της συμπληρωματικότητας [10] [εικόνα 1]. Πιο συγκεκριμένα πλήρης συμπληρωματικότητα του ώριμου miRNA μήκους 22 νουκλεοτιδίων οδηγεί σε πλήρη αποδόμηση του mRNA στόχου, ενώ μερική συμπληρωματικότητα ιδίως μεταξύ του δεύτερου και έβδομου νουκλεοτιδίου που συχνά αποκαλείται και σαν miRNA "σπόρος", οδηγεί σε μεταγραφική του αποσιώπηση [5] [εικόνα 2]. Σε ορισμένες περιπτώσεις και οι 2 αλυσίδες του δίκλωνου μορίου ενώνονται με τις πρωτεΐνες αργοναυτές όπως συμβαίνει στη περίπτωση του miR-199 [11]. Στα θηλαστικά η Ago 2 είναι η μοναδική πρωτεΐνη της οικογένειας των αργοναυτών με δράση ενδονουκλεάσης [5]. Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι ένα μόνο miRNA μπορεί να καταστείλει την έκφραση πάνω από 100 mRNAs [9]. Παρόλο που η πλειοψηφία των miRNAs μεταγράφονται με αυτό τον τρόπο, έχει ταυτοποιηθεί ένας μικρός αριθμός που ακολουθεί μονοπάτια ανεξάρτητα από τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα Drosha και Dicer [12].

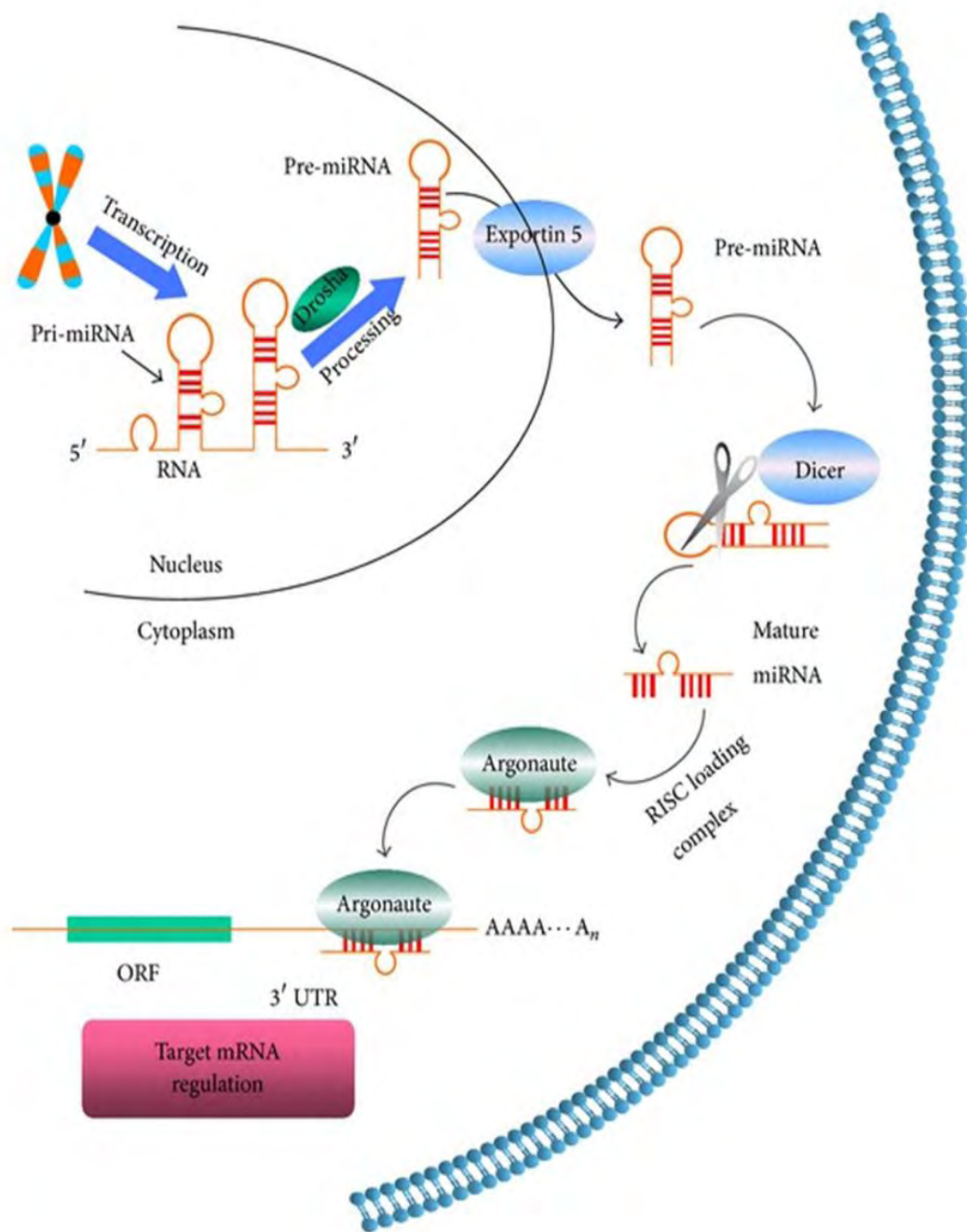
Ένα ερώτημα που μελετάται συχνά είναι ο τρόπος με τον οποίο το miRNA αναγνωρίζει το μόριο-στόχο του. Εκτός από την Ago 2 η οποία έχει μελετηθεί και ανευρεθεί ότι μαρκάρει τον στόχο και άλλες πρωτεΐνες πιθανώς έχουν συσχετιστεί με αυτή τη διαδικασία όπως η Ago 1, η FMRP (Fragile X mental retardation protein) και η TNRC6B (Trinucleotide repeat-containing 6) πρωτεΐνη [5]. Το 5'άκρο του ώριμου miRNA διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση στόχου και είναι ζωτικής σημασίας τόσο για την σταθερότητα του ώριμου miRNA όσο και στην ενσωμάτωσή του στο σύμπλοκο RISC [13].

Τα miRNAs που έχουν βρεθεί καταχωρούνται σε μία βάση δεδομένων τη miRbase database [11]. Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα δεδομένα της miRbase, 21,264 πρόδρομα microRNAs και 25,141 ώριμα microRNAs έχουν αναγνωρισθεί σε 193 ευκαρυώτες και ιούς. Από αυτά, 1,600 πρόδρομα microRNAs και 2,042 ώριμα microRNAs έχουν βρεθεί στο ανθρώπινο είδος [11]. Πιστεύεται ότι τα miRNAs ρυθμίζουν την έκφραση 30% γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες [11]. Ένα miRNA έχει την ικανότητα να ρυθμίζει πολλά γονίδια ταυτόχρονα και το αντίθετο δηλαδή ένα mRNA μπορεί να ρυθμίζεται από διαφορετικά miRNAs [14]. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι η οικογένεια των miR-15a/16-1 έχει την ικανότητα να ρυθμίζει την έκφραση πάνω από το 14% των ανθρώπινων γονιδίων [14].

Έτσι, δεδομένης της σημασίας των miRNAs για όλες τις κυτταρικές διεργασίες, είναι σήμερα πολύ σημαντικό να προσδιοριστούν όλα τα κυτταρικά μονοπάτια όπου τα miRNAs μπορεί να δράσουν. Η πιο άμεση προσέγγιση είναι να προβλέψουμε, μέσω αλγορίθμων, κάθε στόχο για ένα δεδομένο miRNA, καθώς και τα δυνητικά miRNAs που μπορούν να προσδεθούν σε ένα δεδομένο στόχο [15]. Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός αλγορίθμων που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση υποθετικών θέσεων δέσμευσης miRNAs [15]. Ο Miranda (<http://www.microrna.org/>) είναι ένας αλγόριθμος ο οποίος μελετά τη συμπληρωματικότητα του miRNA με το mRNA στόχο και την ενέργεια που απαιτείται για τη σύνδεση [15]. Ο PicTar(<http://pictar.bio.nyu.edu/>) υπολογίζει τα πιθανά miRNAs που ενώνονται σε μια συγκεκριμένη 3'UTR περιοχή ενός mRNA στόχου [15]. Το πρόγραμμα MicroInspector (<http://mirna.imbb.forth.gr/microinspector/>) δημιουργεί μια λίστα των πιθανών θέσεων στόχων, ενός συγκεκριμένου miRNA [15]. Το Diana-MicroT (http://www.diana.pcbi.upenn.edu/cgi-bin/micro_t.cgi) βρίσκει miRNAs τα οποία είναι εξελικτικά συντηρημένα σε ανθρώπους και ζώα [15]. Τέλος, ο TargetScan (<http://genes.mit.edu/targetscan>) ψάχνει τα 3'UTR για τα τμήματα της τέλει συμπληρωματικότητας κατά Watson - Crick στις βάσεις 2-8 του miRNA για σύνδεση με την αντίστοιχη αλληλουχία του mRNA στόχου [15].

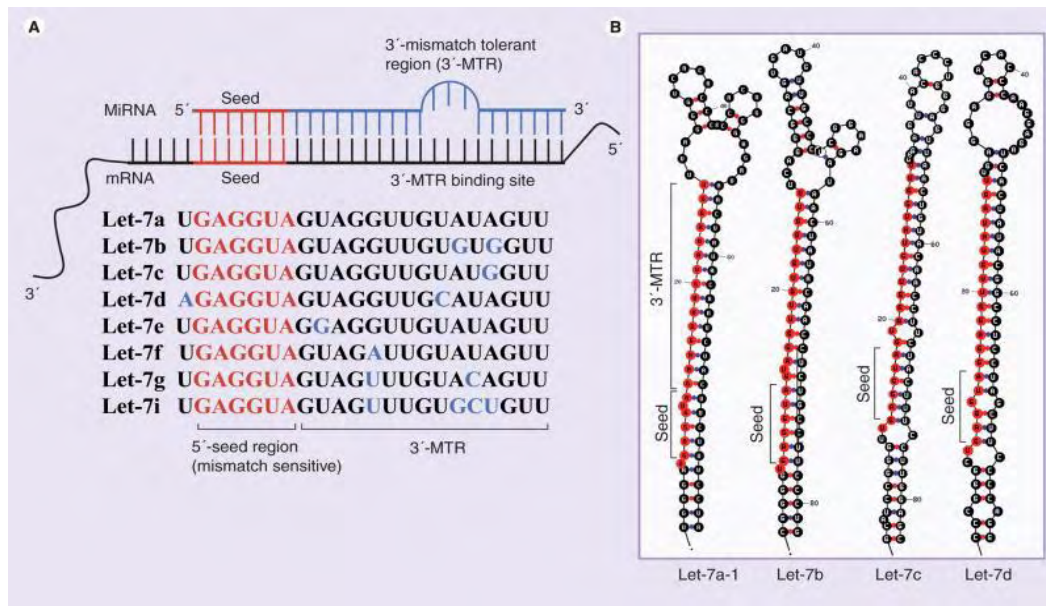
Πρόσφατα μια μελέτη σύγκρινε τους 8 πιο κοινούς χρησιμοποιούμενους αλγόριθμους και παρέθεσε τους 4 με την μεγαλύτερη ειδικότητα και ευαισθησία [16]. Οι DIANA-microT 3.0, TargetScan 5.0, Pictar και EIMMo έχουν όλοι ακρίβεια

που αγγίζει το 50% και υψηλή ευαισθησία , με το TargetScan 5.0 να αποτελεί το πιο αναβαθμισμένο σύστημα και το Pictar το λιγότερο αναβαθμισμένο [16]. Παρόλα αυτά χρειάζεται να γίνεται πάντα σύγκριση του αποτελέσματος σε παραπάνω από ένα αλγόριθμους [16].



9

Εικόνα 1. Βιογένεση των miRNA [36].



Εικόνα 2. Απεικονίζει τη σύνδεση μεταξύ miRNA και mRNA στόχου, χρησιμοποιώντας ως παράδειγμα την οικογένεια του ανθρώπινου miRNA let-7. Το miRNA αποτελείται από δύο περιοχές την 5' περιοχή ανάμεσα στο δεύτερο έως έβδομο νουκλεοτίδιο η οποία συχνά αναφέρεται και ως περιοχή «σπόρου» seed region, και μια περιοχή ανεξάρτητη από τη seed region που ανέχεται αναντιστοιχίες βάσεων μεταξύ των miRNA και του στόχου του, την 3' -mismatch tolerant region (MTR). Η seed region απαιτεί πλήρη συμπληρωματικότητα των βάσεων και ένας πολυμορφισμός σε αυτή τη περιοχή μπορεί να επηρεάσει τη σύνδεση του miRNA με το mRNA στόχο. Παρόλο που η περιοχή 3' - MTR ανέχεται αναντιστοιχίες βάσεων μέχρι ενός σημείου, ενδεχομένως ένας πολυμορφισμός σε αυτή τη θέση να επηρεάσει τη σύνδεση miRNA και mRNA στόχου [5].

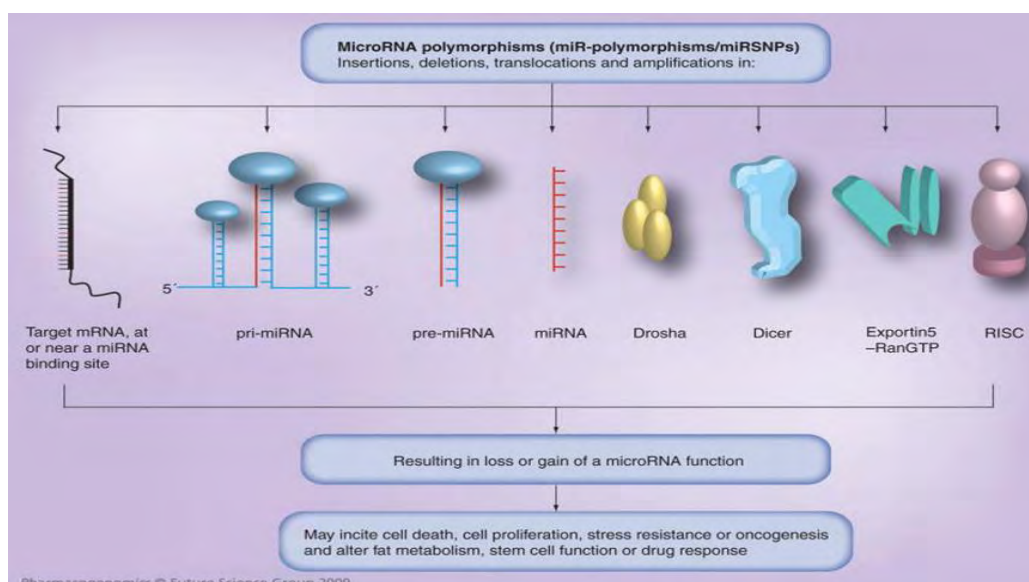
1.2 SNPs

Η αλληλούχιση του DNA έχει δείξει το 99.5 % του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι ίδιο σε όλους τους ανθρώπους [11]. Πολλοί παράγοντες προκαλούν το υπόλοιπο 0.5% που διαφέρει στο γενετικό υλικό των ανθρώπων με τα SNPs να αποτελούν έναν από αυτούς [11]. Οι γενετικές παραλλαγές κυμαίνονται από μεγάλες χρωμοσωμικές αλλαγές έως μεμονωμένες αλλαγές ενός μόνο νουκλεοτιδίου (SNP). Τα SNPs είναι οι πιο συχνές παραλλαγές που εντοπίζονται στην αλληλουχία του DNA [17]. Υπάρχουν πάνω από δέκα έως τριάντα εκατομμύρια πολυμορφισμοί στο ανθρώπινο γονιδίωμα και συμβαίνουν κάθε 100-300 βάσεις [5]. Η μεταβλητότητα των SNPs μεταξύ των ανθρώπων παρέχει ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την συσχέτιση μεταξύ miRNAs και ασθενειών [5]. Η νέα τάξη αυτών των πολυμορφισμών ονομάζεται miRSNPs [18]. Τα SNPs μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία μιας πρωτεΐνης αλλάζοντας την αλληλουχία των αμινοξέων, τη λειτουργία του υποκινητή, τη διαδικασία του ματίσματος και την επεξεργασία του πρόδρομου mRNA [19]. Οι πολυμορφισμοί μπορούν να βρίσκονται είτε σε ομοζυγωτία είτε σε ετεροζυγωτία σε ένα άτομο [19].

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες έχουν βρεθεί περίπου 1940 SNPs που αφορούν τα pre-miRNAs. Δεδομένου ότι ακόμα 414.510 SNPs έχουν συσχετιστεί με την αλληλεπίδραση miRNAs και mRNA, ενισχύοντας ή καταστρέφοντας τις περιοχές σύνδεσης τους, αντιλαμβανόμαστε ότι ένα μόνο SNP μπορεί να προκαλέσει απορρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών και να προδιαθέσει σε διάφορες ασθένειες [20]. Ένα SNP μπορεί να μηδενίσει ή να ελαττώσει τη σύνδεση του miRNA με το mRNA στόχο ή στην αντίθετη περίπτωση να ενισχύσει τη σύνδεση του miRNA και το mRNA στόχο δημιουργώντας μια συμπληρωματική αλληλουχία που προηγουμένως δεν υπήρχε. Στη πρώτη περίπτωση μπορεί να ελαττωθεί η έκφραση μιας πρωτεΐνης στόχου ενώ στη δεύτερη περίπτωση η έκφραση της μπορεί να ενισχυθεί [20].

Ένας πολυμορφισμός σε miRNA στα γαμετικά κύτταρα μπορεί να μεταδοθεί στην επόμενη γενιά, αλλάζοντας το φαινότυπο [14]. Τα SNPs σε γονίδια των miRNAs πιστεύεται ότι επηρεάζουν τη λειτουργία των miRNAs με βάση έναν από τους παρακάτω τρόπους: πρώτον, επηρεάζοντας τη μεταγραφή του pri-miRNA, δεύτερον μέσω της επεξεργασίας του pri-miRNA και pre-miRNA και τρίτον μέσω της σύνδεσης του ώριμου miRNA με το miRNA στόχο [21] (εικόνα 3). SNPs που βρίσκονται στις 3'-UTR περιοχές των γονιδίων που εμπλέκονται στον καρκίνο ή εντός miRNAs που λειτουργούν ως καταστολείς όγκων ή ογκογονίδια, μπορούν να συμβάλουν στην ογκογένεση, επηρεάζοντας τον κίνδυνο ενός ατόμου να αναπτύξει καρκίνο καθώς και στην ανταπόκριση των όγκων στις υπάρχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις [22].

11



Εικόνα 3. Οι πολυμορφισμοί μπορεί να βρίσκονται στο mRNA στόχο, στο pri-miRNA, στο pre-miRNA, στο ώριμο miRNA, στην Drosha, στην Dicer, στην exportin5-ranGTP και στην RISC [14]

Η αρχική ένδειξη ότι τα SPNs σε miRNA μπορεί να επηρεάσουν το φαινότυπο δόθηκε από τον Adelson όπου διαπίστωσε ότι ένα SNP στην 3'UTR του γονιδίου *SLITRK1* ενισχύει τη σύνδεση του miR-189 και συσχετίστηκε με το σύνδρομο Tourette [21]. Το miR-189 προκαλεί μείωση της έκφρασης του *SLITRK1*, γεγονός που έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση του συνδρόμου [58]. Άλλες δύο μελέτες ήρθαν να προστεθούν στην έρευνα για τον ρόλο των SNPs σε περιοχές σύνδεσης των miRNAs και εμφάνιση ασθενειών [6]. Έτσι μια άλλη έρευνα έδειξε ότι ένα SNP στην 3'UTR περιοχή του γονιδίου της μυοστατίνης του προβάτου (*Gdf8*) δημιουργεί μια νέα θέση σύνδεσης για ένα miRNA, οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του *Gdf8* και σχετίζεται με την εμφάνιση μυϊκής υπερτροφίας [6]. Σχεδόν ταυτόχρονα δύο άλλες μελέτες έδειξαν ότι ο rs5186 στην 3'UTR περιοχή του *AGTR1* γονιδίου ελαττώνει τη σύνδεση του miR-155 και σχετίζεται με την εμφάνιση υπέρτασης και καρδιαγγειακών νοσημάτων [6]. Έκτοτε πολλές μελέτες έγιναν με σκοπό να σχετίσουν τους πολυμορφισμούς σε περιοχές σύνδεσης των miRNAs και διάφορες ασθένειες συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 miRNA και καρκίνος

Ο καρκίνος είναι η δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου, και αντιπροσωπεύει σχεδόν το ένα τέταρτο των θανάτων στις ΗΠΑ, με πρώτη αιτία την καρδιακή νόσο. Παγκοσμίως, ο καρκίνος είναι η τρίτη κύρια αιτία θνησιμότητας μετά από καρδιαγγειακές και μολυσματικές ασθένειες. Παρά το γεγονός ότι έχει σημειωθεί πολύ μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση της βιολογίας του καρκίνου και στην παθογένεση, καθώς και στην ανεύρεση νέων στοχευμένων θεραπειών, η πρόοδος στην ανάπτυξη βελτιωμένων τεχνικών για έγκαιρη διάγνωση και πρόληψη υπήρξε ανεπαρκής [23]. Ως αποτέλεσμα, οι περισσότεροι καρκίνοι διαγιγνώσκονται σε προχωρημένα στάδια όταν η θεραπεία είναι λιγότερο αποτελεσματική, οδηγώντας σε κακή έκβαση [23]. Ο καρκίνος προκύπτει ως αποτέλεσμα μιας χαστικής έκφρασης γονιδίων τα οποία εμπλέκονται σε διάφορες αναπτυξιακές διαδικασίες και διαδικασίες διαφοροποίησης. Πρόσφατες μελέτες έχουν ενοχοποιήσει πολλά miRNA στη γένεση, στο πολλαπλασιασμό, στην μετάσταση καρκινικών κυττάρων αλλά και τα miRNAs έχουν χρησιμοποιηθεί για τη πρόγνωση πολλών κακοηθειών [23]. Πάνω από 50% των γονιδίων που κωδικοποιούν τα miRNAs βρίσκονται σε χρωμοσωμικές περιοχές που σχετίζονται με το καρκίνο [3].

Πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί ότι τα γονίδια των miRNAs σχετίζονται με πολλούς καρκίνους. Η έκφραση τους διαφοροποιείται ανάμεσα σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα και ανάμεσα σε διαφορετικούς τύπους καρκινικών κυττάρων [24]. Η αρχική ένδειξη ότι τα miRNAs παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση προέκυψε όταν μια σημαντική μελέτη κατέδειξε την μείωση του miR-15a/16-1 στην

χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία αποδεικνύοντας ότι αποτελεί ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό παράγοντα. Μετά από αυτό χιλιάδες μελέτες δημοσιεύτηκαν με σκοπό να εξηγήσουν το ρόλο των miRNAs στη παθογένεση του καρκίνου [9]. Έχει καταδειχθεί ότι τα miRNAs μπορούν να δράσουν ως καταστολείς όγκου προκαλώντας καταστολή της έκφρασης ενός ογκογονιδίου ή μπορούν και τα ίδια να δράσουν ως ογκογονίδια [25]. Επίσης τα miRNAs παίζουν ρόλο στη καρκινογένεση μέσω της ικανότητας τους να ρυθμίζουν γονίδια που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όπως είναι το *c-MYC* και *E2F1* [26].

2.2 miRNA ως ογκογονίδια και ως ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα δύο πρώτα miRNAs τα οποία ταυτοποιήθηκαν ως ογκογονίδια ήταν το miR-155 και το σύμπλεγμα miR-17-92. Πολλές μελέτες έχουν καταδείξει ότι το miR-155 υπερεκφράζεται στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, στο λέμφωμα Burkitt, στο λέμφωμα Hodgkin και non-Hodgkin λέμφωμα, στους πρωτογενείς όγκους του μεσοθωρακίου, στον καρκίνο του πνεύμονα και στο καρκίνο του μαστού. Το σύμπλεγμα miR-17-92 το οποίο περιέχει έξι miRNAs (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b1 και miR-92-1), υπερεκφράζεται στο οξώδες λέμφωμα καθώς και σε πολλούς στερεούς όγκους όπως στο καρκίνο του παγκρέατος, του στομάχου του πνεύμονα και άλλα [27]. Άλλα παραδείγματα miRNAs που έχουν ταυτοποιηθεί και χαρακτηριστεί ως ογκογονίδια είναι τα miR-21 και miR-372/373 [28].

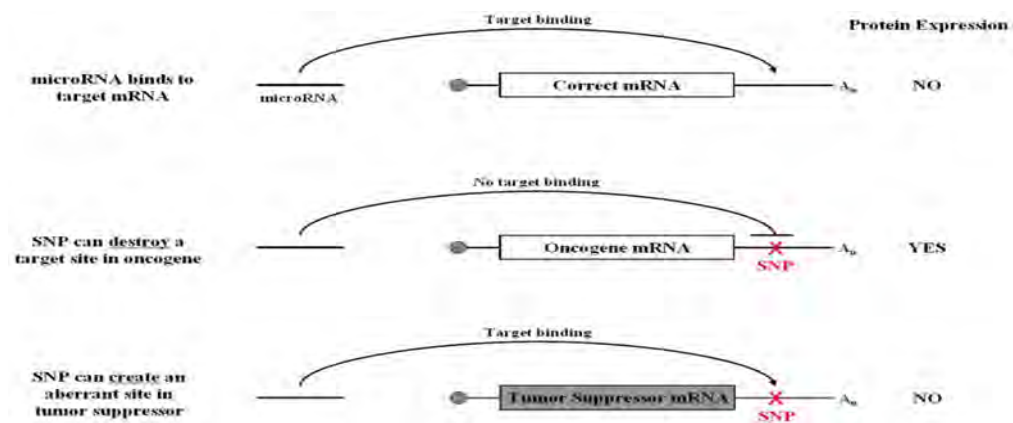
Παρόλο που μερικά miRNAs υπερεκφράζονται στον καρκίνο, τα περισσότερα υποεκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα υποδεικνύοντας ότι υπάρχουν περισσότερα ογκοκατασταλτικά miRNAs από τα miRNA που δρουν ως ογκογονίδια [29]. Για παράδειγμα το miR-1 αποτελεί το πιο συχνό miRNA που υποεκφράζεται σε διάφορους καρκινικούς τύπους [29]. Αυτό το miRNA συμμετέχει σε πολλές διαδικασίες των καρκινικών κυττάρων όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση [29]. Το miR-1 ασκεί σημαντική δράση εναντίον κλασικών ογκογενετικών μονοπατιών όπως για παράδειγμα αυτά που μεσολαβούνται από τα γονίδια *Met*, *HDAC4*, *PIM-1*, *Wnt*, *Cyclin D*, *FOXP1*, *Slug*, και *TAGLN2* αποτελώντας έναν από τους πιο σημαντικούς θεραπευτικούς στόχους της αντικαρκινικής θεραπείας [29]. Υπάρχουν και ορισμένες περιπτώσεις που miRNAs έχουν διττό ρόλο και μπορούν να συμπεριφέρονται σε άλλους καρκινικούς τύπους ως ογκογονίδια και σε άλλους ως ογκοκατασταλτικά γονίδια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το miR-125b το οποίο στον καρκίνο του εντέρου και στις αιματολογικές κακοήθειες υπερεκφράζεται, προκαλεί κυτταρική αύξηση και πολλαπλασιασμό ενώ παράλληλα αναστέλλει τα αποπτωτικά μονοπάτια [30]. Αντίθετα στο καρκίνο του μαζικού αδένα και στα ηπατοκυτταρικά καρκινώματα υποεκφράζεται, με αποτέλεσμα να αναστέλλονται τα αντιαποπτωτικά μονοπάτια και να ενισχύεται η καρκινική εξαλλαγή [30]. Οι αιτίες αυτού του οξύμωρου

φαινομένου δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί [30]. Άλλα miRNAs που έχουν χαρακτηριστεί ως ογκοκατασταλτικά λόγω του γεγονότος ότι μειώνονται στο καρκίνο είναι τα miR-15a, το miR-16-1, miR-34, let-7 οικογένεια και το miR-29 [28]. Από τα παραπάνω αντιλαμβανόμαστε ότι πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν miRNAs μπορεί να οδηγήσει στη παθογένεση του καρκίνου.

2.3 SNPS σε miRNAs και ο ρόλος τους στην καρκινογένεση.

Έντονη έρευνα σήμερα εστιάζεται στην εξέρευση ειδικών μοριακών αλλαγών που είναι σε θέση να προσδιορίσουν τους ασθενείς υψηλού κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου, τους ασθενείς με πρώιμο καρκίνο ή τους ασθενείς με προκαρκινικές βλάβες. Οι προσπάθειες αυτές είναι ιδιαίτερα σημαντικές, καθώς μπαίνουμε σε μια εποχή της εξατομικευμένης ιατρικής του καρκίνου, όπου ο στόχος είναι η θεραπεία να προσαρμοστεί στο μοναδικό γενετικό προφίλ τόσο του ατόμου όσο και του όγκου τους.

Το 2008 για πρώτη φορά μία μελέτη έδειξε ότι πολυμορφισμοί σε περιοχές σύνδεσης miRNAs στα γονίδια *CD86* και στο γονίδιο του υποδοχέα ινσουλίνης (*INSR*) σχετίζονται με την εμφάνιση σποραδικού καρκίνου του εντέρου [6]. Αυτή ήταν η πρώτη μελέτη που έδειξε την σχέση SNPs σε θέσεις σύνδεσης miRNAs και τη σχέση τους με την καρκινογένεση [6]. Ο ρόλος των SNPs στα miRNAs και ο ρόλος τους στη καρκινογένεση έχει μελετηθεί αρκετά με τον πολυμορφισμό rs2910164 στο miR-146a να αποτελεί ένα από τα πιο συχνά μελετημένα παραδείγματα. Αυτός ο πολυμορφισμός προκαλεί μείωση τόσο του pre-miRNA όσο και του ώριμου miR-146a με αποτέλεσμα να επηρεάζει την επεξεργασία του από το ετεροδιμερές Droscha/DGCR8. Ο πολυμορφισμός αυτός έχει συσχετιστεί με το θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς, τον σποραδικό και οικογενή καρκίνο του μαστού, τον καρκίνο των ωοθηκών, τον καρκίνο του προστάτη και τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο [17]. Παρόλο που έχει μελετηθεί αρκετά η συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών σε miRNAs και καρκινογένεσης λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων χρειάζονται να γίνουν και άλλες μελέτες για να τεκμηριωθεί αυτή η συσχέτιση [31]. SNPs σε microRNA μπορεί να καταστρέψει μια θέση ή να δημιουργήσει μια θέση που δεν υπήρχε [εικόνα 4].



Εικόνα 4: SNPs σε microRNA - στόχος μπορεί είτε να καταστρέψουν μια υπάρχουσα θέση-στόχο ή να δημιουργήσουν μια περιοχή-στόχο στο λάθος mRNA [11].

Λίστα miRSNPs που σχετίζονται με τον καρκίνο

SNP κατηγορία	Τύπος καρκίνου	SNP	γονίδιο	OR (λόγος πιθανοτήτων)
Αλληλουχία miRNA				
	Διάφοροι τύποι καρκίνου	rs11614913	miR-196a2	1.18
	Ουροδόχος κύστη	rs2910164	miR-146-a	0.8
	μαστός	rs895819	miR-27a	0.88
	μαστός	rs2910164	miR-146-a	1.31
	μαστός	rs11614913	miR-196a2	1.23
	μαστός	rs6505162	miR-423	0.50
	μαστός	rs3746444	miR-499	1.25
	μαστός	rs3746444	miR-499	1.10
	μαστός	rs4919510	miR-608	1.62
	Τράχηλος της μήτρας	rs3746444	miR-499	1.98
	Καρκίνος του εντέρου	rs213210	miR-219-1	3.22
	Καρκίνος του εντέρου	rs6505162	miR-423	2.12
	Καρκίνος του εντέρου	rs4919510	miR-608	2.72
	Καρκίνος οισοφάγου	rs213210	miR-219-1	1.75
	Καρκίνος οισοφάγου	rs6505162	miR-423	0.64
	Καρκίνος στομάχου	rs895819	miR-27a	1.48
	Καρκίνος του ρινοφάρυγγα	rs2910164	miR-146-a	0.49

	Μεγαλοκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	rs11614913	miR-196a2	1.76
	Θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς	rs2910164	miR-146-a	1.62
	Καρκίνος του νεφρού	rs895819	miR-27a	0.71
Περιοχή σύνδεσης με mi RNA στόχο				
	Καρκίνος της κύστεως	1010A/G	<i>HOXB5</i>	1.48
	Καρκίνος του μαστού	rs61764370	<i>KRAS</i>	1.47
	Καρκίνος του μαστού	rs7963551	<i>RAD52</i>	0.84
	Καρκίνος του μαστού	rs1044129	<i>RYR3</i>	1.26
	Καρκίνος του μαστού	rs334248	<i>TGFBR1</i>	2.2
	Καρκίνος του εντέρου	rs17281995	<i>CD86</i>	2.93
	Καρκίνος του εντέρου	rs1051690	<i>INSR</i>	2.06
	Μεγαλοκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	rs3134615	<i>MYCL1</i>	2.08
	Μεγαλοκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	rs16917496	<i>SET8</i>	0.45
	Καρκίνος της κεφαλής και του τραχήλου εκ πλακωδών κυττάρων	rs1049253	<i>CASP3</i>	1.29
Στη βιογένεση				
	Καρκίνος του μαστού	rs11786030	<i>AGO2</i>	2.62
	Καρκίνος του μαστού	rs2292779	<i>AGO2</i>	2.94
	Καρκίνος κεφαλής τραχήλου	rs1057035	<i>DICER</i>	0.65
	Μεγαλοκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	rs11077	<i>XPO5</i>	1.77
	Καρκίνος του προστάτη	rs2740348	<i>GEMIN4</i>	0.64
	Καρκίνος του προστάτη	rs7813	<i>GEMIN4</i>	2.53

	Καρκίνος του προστάτη	rs3744741	<i>GEMIN4</i>	0.69
	Καρκίνος νεφρού	rs2740348	<i>GEMIN4</i>	0.67
	Καρκίνος νεφρού	rs7813	<i>GEMIN4</i>	0.68
	Καρκίνος νεφρού	rs910925	<i>GEMIN4</i>	1.74
	Καρκίνος νεφρού	rs3744741	<i>GEMIN4</i>	0.49

[18]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 SNPs και καρκίνος του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πιο συχνά διεγνωσμένο καρκίνο στις γυναίκες παγκοσμίως με ποσοστό 1.3 εκατομμύρια γυναικών να προσβάλλονται ετησίως και 465.000 πεθαίνουν από αυτή την ασθένεια [13]. Παρόλο που περιβαλλοντικοί παράγοντες και ο τρόπος ζωής θεωρούνται προδιαθεσικοί παράγοντες ωστόσο σημαντικοί είναι και οι γενετικοί παράγοντες για την παθογένεση της νόσου [13]. Έρευνες σε διδύμους δείχνουν ότι οι γενετικοί παράγοντες επιπλέκονται στο 1/3 περιστατικών του καρκίνου του μαστού [32]. Ο οικογενής καρκίνος του μαστού αποτελεί το 10% του συνόλου των περιστατικών καρκίνου του μαστού [23]. Μεταξύ αυτών, μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* αντιπροσωπεύουν περίπου 20% των περιπτώσεων [23]. Μεταλλάξεις στα γονίδια *ATM*, *TP53* και *CHEK2* ευθύνονται σε μικρό ποσοστό για την εμφάνιση της νόσου [23]. Παρόλα αυτά πολλοί γενετικοί παράγοντες που πιθανώς επηρεάζουν την εμφάνιση της κακοήθειας παραμένουν αδιευκρίνιστοι [23].

Φορείς μεταλλάξεων του γονιδίου *BRCA1* ή *BRCA2* βρίσκονται σε σημαντικά αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών και ο εκτιμώμενος κίνδυνος για την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού είναι περίπου 80% και περίπου 50% για καρκίνο των ωοθηκών [33]. Ωστόσο, υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον φαινότυπο στους φορείς των μεταλλάξεων των γονιδίων, καθώς και στη διεισδυτικότητα στους φορείς [33]. Αυτό συνεπάγεται την ύπαρξη άλλων παραγόντων τροποποίησης, γενετικών ή περιβαλλοντικών, ως αιτίες για την ανάπτυξη καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών [33]. Έχει βρεθεί ότι τα πιο σημαντικά miRNAs που εκφράζονται στο καρκίνο του μαστού είναι τα miR-125β, miR-145, miR-21 και miR-155. Τόσο τα miR-21 και miR-155 είναι αυξημένα, υποδηλώνοντας ότι μπορούν να δρουν ως ογκογονίδια, ενώ τα υπόλοιπα είναι ελαττωμένα και πιθανώς δρουν ως ογκο-κατασταλτικά γονίδια [33].

Μέχρι τώρα πολλές μελέτες έχουν ερευνήσει τη σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού rs2910164 (G>C) στο miR-146a και καρκίνου του μαστού [13]. Το miR-146a συνδέεται στη 3' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου *BRCA1* και του *BRCA2* [13]. Το 2008 για πρώτη φορά υπογραμμίστηκε η συσχέτιση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και του καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών αλλά και με την ηλικία διάγνωσης της νόσου [13]. Οι ομόζυγοι φορείς του C αλληλίου εκδηλώνουν την ασθένεια κατά μέσο όρο σε ηλικία 43 ετών, οι ετερόζυγοι CG σε ηλικία 46 ετών και οι ομόζυγοι GG σε ηλικία 56 ετών [34]. Μια παρόμοια συσχέτιση έχει βρεθεί και για τον καρκίνο των ωοθηκών με τις γυναίκες με γονότυπο GG να εκδηλώνουν τη νόσο κατά μέσο όρο σε ηλικία 50 ετών, οι γυναίκες με GC σε ηλικία 41 ετών και αυτές με γονότυπο CC σε ηλικία 43 ετών [34]. Η έκφραση του ώριμου miR-146 είναι κατά 60% υψηλότερη στον πολυμορφισμό αυτό σε σχέση με το φυσιολογικό και η ικανότητα σύνδεσης του miR-146 με το *BRCA1* είναι υψηλότερη για το αλληλίο C από ότι για το αλληλίο G προκαλώντας υπερέκφραση του *BRCA1* [34]. Επίσης έχει βρεθεί ότι δεν υπάρχει διαφορά στην ικανότητα σύνδεσης του miR-146a με το *BRCA2* μεταξύ του C και του G αλληλίου [34]. Το miR-146 έχει βρεθεί αυξημένο και σε άλλες κακοήθειες όπως ο παγκρεατικός καρκίνος, ο καρκίνος του θυρεοειδούς και ο καρκίνος του προστάτη [34]. Ο SNP rs3746444 (A>G) στο πρόδρομο μόριο του miR-499 έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες της Ασιατικής φυλής [35]. Πολλά ακόμα SNPs σε θέσεις σύνδεσης miRNAs βρίσκονται σε φορείς μεταλλαγμένων γονιδίων *BRCA1* και *BRCA2* και έχουν μελετηθεί και συσχετιστεί με το καρκίνο του μαστού [23]. Μια τέτοια έρευνα έγινε σε γυναίκες ισραηλινής καταγωγής φορείς μεταλλάξεων είτε στο *BRCA1* (185delAG, 5383InsC, Tyr978X) είτε στο *BRCA2* (6174delT, 8765delAG) [23]. Βρέθηκε ότι δύο τέτοιοι πολυμορφισμοί ο rs11169571 (του miR-320) και rs3842753 (του miR-491) σχετίζονται με την εμφάνιση της κακοήθειας [23]. Ο rs11169571 βρίσκεται στο 3'UTR του γονιδίου *ATF1* και μεταξύ φορέων μεταλλάξεων του *BRCA2*, βρέθηκε ότι οι CT ετεροζυγώτες εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου μαστού και ωοθηκών σε σχέση αυτούς που έχουν γονότυπο TT [23]. Επίσης ο rs3842753 βρίσκεται στο 3'UTR του γονιδίου *INS* και μεταξύ των φορέων μεταλλάξεων του *BRCA1*, οι ομοζυγώτες AA ανέπτυξαν καρκίνο των ωοθηκών σε μεγαλύτερη ηλικία σε σχέση με τους ετεροζυγώτες AC ή τις γυναίκες με γονότυπο CC [23]. Επίσης οι AC ετεροζυγώτες είχαν μια αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου των ωοθηκών σε σύγκριση με ομοζυγώτες AA και ομοζυγώτες CC είχαν υψηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης καρκίνου των ωοθηκών σε σύγκριση με ομοζυγώτες AA [23].

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι πολυμορφισμοί στις 3'UTR περιοχές γονιδίων που κωδικοποιούν ιντεγκρίνες σχετίζονται με την εμφάνιση κακοηθειών [36]. Οι ιντεγκρίνες είναι μόρια τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία συνάψεων των κυττάρων με την κυτταρική μεμβράνη και δρουν ανασταλτικά στη μετανάστευση των κυττάρων [36]. Η έκφραση πολλών τέτοιων μορίων επηρεάζεται και από τα

miRNAs [36]. Το A αλληλόμορφο του rs743554 στο γονίδιο *ITGB4* σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, με πιο επιθετικούς όγκους και με εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού [36]. Αυτό πιθανώς οφείλεται στο ότι το αλληλόμορφο (A) μπορεί να προκαλέσει απώλεια της θέσης σύνδεσης για το miR-34a, γεγονός που υποστηρίζεται από μελέτες που έχουν αποδείξει υπερέκφραση του miR-34a στον καρκίνο του μαστού συγκριτικά με φυσιολογικό ιστό του μαστού [36]. Προκαλώντας απώλεια της θέσης σύνδεσης του miR-34a στο γονίδιο *ITGB4*, ο rs743554 μπορεί να ενισχύσει την ικανότητα του *ITGB4* να προωθήσει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, την επιβίωση και την εισβολή τους και να εξηγήσει έτσι εν μέρει την παρατηρούμενη κακή επιβίωση των φορέων του αλληλόμορφου A [36].

Σε μια άλλη μελέτη βρέθηκε ότι πολυμορφισμός στο rs2747648 (C>T) στην 3' UTR περιοχή του οιστρογονικού υποδοχέα *ESR1* σχετίζεται με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [37]. Η μελέτη διεξήχθη στο γερμανικό πληθυσμό και αποκλείστηκαν ασθενείς με μεταλλάξεις στα γονίδια *BRAC1* και *BRAC2* [23]. Βρέθηκε λοιπόν ότι το αλλήλιο T εμποδίζει τη σύνδεση του miR-453 και οδηγεί σε μείωση της διαμεσολαβούμενης από το miR-453 καταστολής του *ESR1* άρα σε μεγαλύτερα επίπεδα έκφρασης του *ESR1*, τα οποία έχουν συσχετιστεί με εμφάνιση καρκίνου του μαστού [37]. Αντίθετα το C αλληλόμορφο ασκεί προστατευτική δράση στο καρκίνο του μαστού στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [37].

Το *XRCC1* (X-ray repair cross complementing group 1) είναι ένα από τα πάνω από είκοσι γονίδια που συμμετέχουν στο μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA με εκτομή μιας βάσης [38]. Πολλές βιοχημικές και βιολογικές αναλύσεις υποδεικνύουν το ρόλο της πρωτεΐνης *XRCC1* στην επιδιόρθωση του DNA διότι αλληλεπιδρά με πολλές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA όπως η DNA πολυμεράση β, η DNA λιγάση 3 και η *polγ* (ADP) ριβόζη [38]. Έτσι πολυμορφισμοί που σχετίζονται με αυτήν την πρωτεΐνη έχουν μελετηθεί πολύ στην διαδικασία της καρκινογένεσης [38]. Σε μια μελέτη διαπιστώθηκε ότι ο πολυμορφισμός rs1799782 στο *XRCC1* γονίδιο ο οποίος επηρεάζει τη σύνδεση του miR-138 σχετίζεται με την εμφάνιση του καρκίνου του μαστού [39]. Το T αλλήλιο αυξάνει την ικανότητα σύνδεσης του miR-138 σε σχέση με το αλλήλιο C [39]. Έτσι γυναίκες ασθενείς με γονότυπο CC εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης *XRCC1* ενώ γυναίκες που φέρουν γονότυπο CT εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης [39]. Σημαντικό είναι να αναφέρουμε ότι στην ίδια μελέτη δεν βρέθηκαν ασθενείς με γονότυπο TT γιατί προφανώς ο γονότυπος αυτός δρα προστατευτικά στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού αυξάνοντας τα επίπεδα της πρωτεΐνης *XRCC1* [39].

Ο rs16917496 στην 3' UTR περιοχή του *SET8* γονιδίου, περιοχή σύνδεσης του miR-502 έχει συσχετιστεί με πρώιμη έναρξη καρκίνου του μαστού [40]. Το *SET8* μεθυλιώνει την TP53 και ρυθμίζει τη σταθερότητα του γονιδιώματος [40]. Επιπλέον, μεταλλάξεις στο TP53 γονίδιο σχετίζονται με το σύνδρομο Li-Fraumeni και συμβάλλουν σε έναρξη πολλών καρκίνων σε πρώιμη ηλικία, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού [40]. Σε μια μελέτη μεταξύ 1,110 πασχόντων και 1,097 μαρτύρων βρέθηκε ότι το αλληλόμορφο C του *SET8* αλληλεπιδρά συνεργατικά με το αλληλόμορφο G στο γονίδιο *TP53* με ένα δόσοεξαρτώμενο τρόπο και μειώνει την ηλικία έναρξης του καρκίνου του μαστού [40]. Τα άτομα με τον γονότυπο CC στο *SET8* και GG στο *TP53* ανέπτυξαν καρκίνο με μέση ηλικία εμφάνισης τα 47,7 έτη, σε σύγκριση με 54,6 έτη για τα άτομα με γονότυπους TT στο *SET8* και CC στο *TP53* [40]. Τέλος, σε δείγματα από ιστούς με καρκίνο του μαστού, ο γονότυπος CC στο *SET8* συνδέθηκε με μειωμένα επίπεδα του *SET8*, αλλά όχι με τα επίπεδα του miR-502 [40].

Ένα άλλο παράδειγμα είναι ο πολυμορφισμός rs11614913 στο miR-196a2 ο οποίος συμβάλλει σε μείωση της ευαισθησίας για καρκίνο του μαστού ιδιαίτερα στον ασιατικό πληθυσμό [13]. Επιπρόσθετα ο πολυμορφισμός rs6505162 (A>C) στο πρόδρομο μόριο του miR-423 σχετίζεται με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες της καυκάσιας φυλής [18]. Ο SNP rs895819, ο οποίος βρίσκεται στο pre-miRNA-27a έχει δύο αλληλίες τα A και G [18]. Ο πολυμορφισμός αυτός μελετήθηκε σε γερμανίδες γυναίκες και το G αλληλίο συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού [18].

Το Ryanodine receptor 3 (*RYP3*), ανήκει στην οικογένεια των RYP πρωτεϊνών και επηρεάζει τα επίπεδα του ασβεστίου [22]. Έχει βρεθεί ότι το *RYP3* υπερεκφράζεται στο καρκίνο του μαστού και σχετίζεται με το μέγεθος του όγκου [22]. Έχει βρεθεί επίσης ότι ο πολυμορφισμός στο rs1044129 (G>A), ο οποίος βρίσκεται στη 3' UTR περιοχή του miR-367 έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού κυρίως σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [22]. Πιο συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί ότι οι γυναίκες με γονότυπο AA είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε σχέση με αυτές με γονότυπο GA ή GG (OR: 1.26) [18]. Έχει βρεθεί επίσης ότι η μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D συνδέεται με την εμφάνιση καρκίνου στο μαζικό αδένω [22]. Έτσι γίνεται αντιληπτό ότι ο παραπάνω πολυμορφισμός σχετίζεται με καρκίνο του μαστού λόγω της απορρύθμισης που προκαλείται στην ομοιόσταση του ασβεστίου [22]. Ένας άλλος πολυμορφισμός ο rs3134615 στη 3' UTR του *MYCL1* έχει βρεθεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας [32]. Το *MYCL1* ανήκει στην ίδια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων όπως το γνωστό πρωτοογκογονίδιο *MYC* και έχουν παρόμοια δομή [32]. Το *MYCL1* έχει συσχετιστεί σε παλαιότερες μελέτες με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου της ωοθήκης [32]. Επιπρόσθετα ο πολυμορφισμός rs12975333 του miR-125a που οδηγεί σε αντικατάσταση της

γουανίνης σε θυμίνη στο όγδοο νουκλεοτίδιο του ώριμου mir-125, έχει σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή του και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού σε μια μελέτη που έγινε στην Αμβέρσα. Ωστόσο μια μεγάλη μελέτη που περιελάμβανε την Γερμανία, την Ιταλία, την Ισπανία και την Αυστρία δεν κατάφερε να εντοπίσει φορείς του σπάνιου αυτού αλληλόμορφου και να επιβεβαιώσει τα αποτελέσματα τις παραπάνω έρευνας [20].

Ο πολυμορφισμός rs7963551 βρίσκεται στην 3'UTR του *RAD52* και έχει δύο αλληλίες το C και το A [61]. Η *RAD52* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία συμμετέχει στον ομόλογο ανασυνδυασμό [18]. Σε έρευνες που έχουν γίνει έχει βρεθεί ότι το αλληλίο C σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου του μαστού [18]. Ο πολυμορφισμός αυτός αποδυναμώνει την ικανότητα του hsa-let-7 για σύνδεση στην 3'UTR του *RAD52* προκαλώντας την υπερέκφραση του [41]. Η υπερέκφραση του *RAD52* πιθανώς ενισχύει τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς του DNA και αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στην εμφάνιση καρκινογένεσης [41].

Τα miRNA και οι πολυμορφισμοί τους δεν συμμετέχουν μόνο στην εκδήλωση ή όχι της ασθένειας αλλά επηρεάζουν και το κίνδυνο εμφάνισης μεταστάσεων, την εξέλιξη της νόσου αλλά και την ανταπόκριση στις υπάρχουσες θεραπείες [32].

Ο πολυμορφισμός rs61764370 στη 3'UTR περιοχή του ογκογονιδίου *KRAS*, έχει συσχετιστεί όχι μόνο με την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών αλλά και με την αυξημένη αντίσταση στο κοινώς χρησιμοποιούμενο χημειοθεραπευτικό παράγοντα πλατίνη [11]. Στον καρκίνο των ωοθηκών ο rs34091 στην 3'-UTR του *MDM4* γονιδίου, δημιουργεί μια νέα θέση σύνδεσης για το miR-191 και προκαλεί καταστολή της έκφρασης του γονιδίου [42]. Αυτός ο πολυμορφισμός έχει συσχετιστεί με καθυστερημένη εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών αλλά και μικρότερη θνητότητα από την ασθένεια [42]. Πιθανώς αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η υπερέκφραση του *MDM4* προωθεί την ογκογένεση μέσω καταστολής της p53 και επομένως η καταστολή της *MDM4* ασκεί προστατευτική δράση [42]. Ο rs4245739 είναι ένας A>C πολυμορφισμός, βρίσκεται στην 3'UTR του *MDM4* περιοχή σύνδεσης του miR-191 και μελετήθηκε για τη συσχέτιση του με τον καρκίνο των ωοθηκών [43]. Τα άτομα ομόζυγα για το αλληλίο A έχουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου από την ασθένεια πιθανώς λόγω μεγαλύτερης αναστολής του miR-191 και υπερέκφρασης του *MDM4* που εμφανίζουν οι ασθενείς αυτοί [44].

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ο τρίτος πιο συχνά διεγνωσμένος καρκίνος και η τέταρτη κύρια αιτία των θανάτων από καρκίνο στις γυναίκες παγκοσμίως, αντιπροσωπεύοντας το 9% (529.800) των νέων περιπτώσεων καρκίνου και 8% (275.100) των θανάτων από καρκίνο μεταξύ των γυναικών. Πάνω από το 85% αυτών των περιπτώσεων και των θανάτων συμβαίνουν στις αναπτυσσόμενες χώρες [45]. Η επίμονη λοίμωξη με τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), ιδιαίτερα τους τύπους HPV υψηλού κινδύνου, είναι η πρωταρχική αιτία του καρκινώματος

του τραχήλου, και κάποιοι την θεωρούν ως αναγκαία αιτία για την ασθένεια [45]. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα έκφρασης του miR - 218 σχετίζονται με λοίμωξη από HPV υψηλού κινδύνου και εμπλέκονται στην παθογένεση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [45]. Επίσης μειωμένα επίπεδα του miR-218 έχουν βρεθεί σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου και επηρεάζουν τη ρύθμιση πολλών γονιδίων όπως το *LAMB3*, *RICTOR*, *ROBO1* και *BIRC5* τα οποία σχετίζονται με την εμφάνιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [46]. Το *LAMB3* γονίδιο έχει βρεθεί ότι είναι ένας μεταγραφικός στόχος του miR - 218. Η *LAMB3* εκφράζεται σε πολλά επιθηλιακά κύτταρα και συμμετέχει στο μικροπεριβάλλον του όγκου και στην ικανότητα μετάστασης των καρκινικών κυττάρων [46]. Ο SNP rs11134527 (A>G) του pri-miR -218 μελετήθηκε στο καρκίνο του τραχήλου και μάλιστα ο γονότυπος GG σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε σχέση με τους γονότυπους GA και AA [46]. Το μονοπάτι miR-218-*LAMB3* είναι μια πιθανή αιτία συσχέτισης του rs11134527 και του τραχήλου της μήτρας [46].

3.2 SNPs και καρκίνος του θυρεοειδούς.

Το θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς αποτελεί την πιο κοινή κακοήθεια του θυρεοειδούς σε ποσοστό 80%. Η συχνότητα του καρκίνου του θυρεοειδούς έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια με περίπου 26.500 καινούριες περιπτώσεις ετησίως στις ΗΠΑ. Η παθογένεια του περιλαμβάνει μεταβολές στο μονοπάτι RET/PTC-RAS-BRAF. Μια ισχυρή κληρονομική προδιάθεση έχει καταδειχθεί με κίνδυνο 3 έως 8 φορές περισσότερο σε συγγενείς ασθενών πρώτου βαθμού [24]. Ένας σημαντικός αριθμός SNPs έχουν βρεθεί να σχετίζονται με το θηλώδες καρκίνωμα μέσα από μελέτες που αφορούσαν διαφορετικούς πληθυσμούς. Τα περισσότερα περιστατικά διαγιγνώσκονται σε ηλικίες 30-50 ετών με τις γυναίκες να προσβάλλονται συχνότερα σε σχέση με τους άντρες με ποσοστό να κυμαίνεται από 2:1 έως 4:1. Οι συνήθεις θεραπευτικές προσεγγίσεις με χειρουργική αφαίρεση και θεραπεία με ιώδιο έχουν εξαιρετικά αποτελέσματα με 25ετή επιβίωση στο 95% των περιπτώσεων. Ωστόσο ένα μικρό ποσοστό ασθενών εμφανίζει μεταστάσεις [47]. Πέντε miRNAs τα miR-146, miR-221, miR-222, miR-155 και miR-181a έχουν βρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς σε σχέση με άτομα που δεν εμφανίζουν την κακοήθεια [27].

Ο miR-146a rs2910164 είναι ο πιο κοινός πολυμορφισμός σε σχέση με το καρκίνο του θυρεοειδούς που έχει μελετηθεί. Το miR-146 βρίσκεται σε δύο διαφορετικές μορφές: το miR -146a που κωδικοποιείται από περιοχή του χρωμοσώματος 5q33 και το miR- 146b το οποίο κωδικοποιείται από περιοχή του χρωμοσώματος 10q24. Οι δύο μορφές ρυθμίζονται διαφορετικά με το miR-146a να ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό από τον NF-κΒ. Ο πολυμορφισμός του miR-146a rs2910164 βρίσκεται στο εξηκοστό νουκλεοτίδιο του pre-miR-146a. Ο πολυμορφισμός αυτός χαρακτηρίζεται

από αλλαγή της γουανίνης σε κυτοσίνη και προκαλεί τη μείωση της παραγωγής του ώριμου miR-146a και έχει βρεθεί σε πολλές μελέτες να σχετίζεται με αυξημένο ποσοστό θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς [48]. Ο πολυμορφισμός αυτός οδηγεί σε μείωση της επεξεργασίας του pri-miRNA από την Droscha με αποτέλεσμα μειωμένη έκφραση του miR-146 [11]. Σε μεταγενέστερες μελέτες ο ίδιος πολυμορφισμός συσχετίστηκε επίσης με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, το καρκίνωμα του οισοφάγου και τον καρκίνο του προστάτη [11].

Ένας άλλος πολυμορφισμός που έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση του θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς είναι ο rs17084733 (G>A) [6]. Ο πολυμορφισμός αυτός βρίσκεται στην 3'UTR περιοχή του γονιδίου *KIT* περιοχή σύνδεσης του miR-221/222 και σχετίζεται με αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση της νόσου στους ετερόζυγους ασθενείς με γονότυπο GA [6]. Το γονίδιο *KIT* είναι ένας υποδοχέας πρωτεϊνικής κινάσης ο οποίος εμπλέκεται στην κυτταρική διαφοροποίηση και ανάπτυξη και έχει βρεθεί ελαττωμένο σε ασθενείς με θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς [49]. Το KIT είχε βρεθεί ελαττωμένο σε ασθενείς με καρκίνωμα του θυρεοειδούς αλλά ο μηχανισμός που το προκαλεί παρέμενε για πολλά χρόνια άγνωστος [49]. Επίσης τα επίπεδα miR-221 και miR-222 έχουν βρεθεί αυξημένα στον ιστό ασθενών με θηλώδες καρκίνωμα [49]. Συνεπώς οι ερευνητές συμπέραναν ότι ο πολυμορφισμός αυτός επηρεάζει τη σύνδεση του miRNA με το mRNA στόχο και αυξάνει έτσι την αποτελεσματικότητα της διαμεσολαβούμενης από το miR-221 και miR-222 μεταφραστικής καταστολής του *KIT* [49]. Με τον ίδιο μηχανισμό και ο rs3733542 (G>C) στην 3'UTR του *KIT*, περιοχή σύνδεσης του miR-146a/146b σχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου [49].

3.3 SNPs σε miRNA και καρκίνοι του γαστρεντερικού συστήματος

Περίπου 1.23 εκατομμύρια άνθρωποι προσβάλλονται κάθε χρόνο από καρκίνο του εντέρου και ο καρκίνος του εντέρου αποτελεί την τέταρτη αιτία θανάτων από καρκίνο παγκοσμίως με 1.2 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 600,000 θανάτους ετησίως [50]. Εμφανίζεται κυρίως σε ανεπτυγμένες χώρες στην Ευρώπη, στην Αμερική και στην Ωκεανία [50]. Παρόλο που ο τρόπος ζωής και η διατροφή είναι οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου, είναι πλέον γνωστό ότι πολλά miRNAs έχουν συσχετιστεί με το καρκίνο του εντέρου και είναι κατανοητό ότι πολυμορφισμοί σε αυτά μπορεί να μεταβάλλουν την ευαισθησία ενός ατόμου για την εκδήλωση της ασθένειας αυτής [50]. Μελέτες έχουν δείξει ότι τόσο η ομοζυγωτία όσο και η ετεροζυγωτία για τον πολυμορφισμό rs17281995 στο *CD86* αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του εντέρου και κυρίως καρκίνου του ορθού στη καυκάσια φυλή [51]. Αντίθετα η μελέτη του ίδιου πολυμορφισμού στην Ασιατική φυλή δεν κατάφερε να αποδείξει κάποια συσχέτιση [51]. Το *CD86* (Cluster of Differentiation 86) παίζει σημαντικό ρόλο στην αυτοανοσία, στην φλεγμονή και στην ανοσιακή απάντηση των όγκων [51]. Μεταλλάξεις στο *CD86* μπορεί να αποδιοργανώσουν τα

κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και να επάγουν έντονη φλεγμονώδη απάντηση [51]. Έλλειψη του *CD86* μπορεί να καταστείλλει τη δράση των Τ-λεμφοκυττάρων εναντίον των καρκινικών κυττάρων και να επιτρέψει τον κακοήγη μετασχηματισμό και το πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων [51]. Επίσης είναι γνωστό ότι η φλεγμονή συμμετέχει σε πολλές διαδικασίες όπως στην αγγειογένεση και έτσι βοηθά την ανάπτυξη των καρκινικών όγκων [52]. Ο πολυμορφισμός αυτός προκαλεί αυξημένα επίπεδα του *CD86* δημιουργώντας ένα μικροφλεγμονώδες περιβάλλον κατάλληλο για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων [53]. Η αντικατάσταση της κυτοσίνης σε γουανίνη επηρεάζει τη συγγένεια σύνδεσης για το *miR-337*, *miR-582*, *miR-184* και *miR-212* και *miR-200a* [53]. Όταν το C αλλήλιο είναι παρόν η ικανότητα σύνδεσης των *miR-337*, *miR-582* και *miR-200a* μειώνεται, ενώ η ικανότητα σύνδεσης των *miR-184* και *miR-212* αυξάνεται [53]. Θα πρέπει να τονιστεί ότι το *miR-582* φαίνεται να είναι παρόν σε φυσιολογικούς ιστούς παχέως εντέρου, και η έκφρασή του φαίνεται μειώνεται σε κακοήθειες εντέρου με μετρήσεις που γίνονται με ποσοτική αλυσωτή αντίδραση πολυμεράσης [53]. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι αυτό το εύρημα φαίνεται να συμφωνεί με το γεγονός ότι ο *rs1728199* προκαλεί μειωμένη δέσμευση του *miR-582* στο στόχο του και συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνου του εντέρου [53].

Σε μια μελέτη που έγινε σε ασθενείς στην Τσεχία, βρέθηκε ότι ο *rs1051690b* (G>A) στην 3'UTR περιοχή του γονιδίου *INSR* (insulin receptor) επηρεάζει τη σύνδεση των *mir-612* και *mir-618* και σχετίζεται με την εμφάνιση αδενοκαρκινώματος του εντέρου [53]. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η αυξημένη γλυκόζη πλάσματος νηστείας, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος και ο αυξημένος σπλαχνικός λιπώδης ιστός όλα συνδέονται με αδενώματα, μια πρόδρομη βλάβη που μπορεί να εξαλλαγεί σε αδενοκαρκίνωμα του εντέρου [53].

Ο *rs6505162* (A>C) στο πρόδρομο μόριο του *mir-423* έχει συσχετιστεί με καλύτερη πρόγνωση και μεγαλύτερη επιβίωση σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του εντέρου [18]. Επιπλέον ο *rs4919510* στο pre-miRNA του *miR-608* έχει δύο αλλήλια το C και G [54]. Ο πολυμορφισμός αυτός έχει μελετηθεί για το κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του παχέως εντέρου [54]. Σε ασθενείς με καρκίνο του παχέως εντέρου ιδίως αυτοί που λαμβάνουν χημειοθεραπεία βασισμένη σε φλουοροπυριδιμίνη, ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και θανάτου, ενώ άλλες μελέτες δεν έχουν επιβεβαιώσει την ίδια συσχέτιση [54]. Σε μια άλλη μελέτη ο ίδιος πολυμορφισμός σχετίστηκε με καρκίνο του εντέρου και συγκεκριμένα ο γονότυπος GG σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο στην Καυκάσια φυλή, ενώ με μειωμένο κίνδυνο στους Αφροαμερικάνους [54].

Ένας άλλος πολυμορφισμός ο rs11614913 στο miR-196a2 έχει συσχετιστεί με κακοήθειες του γαστρεντερικού συστήματος κυρίως γαστρικό καρκίνο και ηπατοκυτταρικό [31]. Ο γαστρικός καρκίνος είναι μία από τις πιο κοινές και θανατηφόρες κακοήθειες παγκοσμίως, και η δεύτερη πιο κοινή αιτία θανάτου από καρκίνο στον κόσμο [55]. Οι περισσότεροι ασθενείς διαγιγνώσκονται σε προχωρημένα στάδια και πολλοί δεν έχουν ένδειξη για χειρουργική θεραπεία [55]. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης δίαιτας υψηλής σε αλάτι και λιπαρά, η χρήση καπνού, τα αλκοολούχα ποτά και, ειδικά η λοίμωξη από το *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), είναι σημαντικοί παράγοντες για την αιτιολογία του καρκίνου του στομάχου [56].

Σε μια μελέτη που έγινε στις ΗΠΑ ανάμεσα σε 301 ασθενείς με καρκίνο του στομάχου και 313 μάρτυρες βρέθηκε ότι ο rs8126 (T>C) στην 3'UTR περιοχή του *TNFAIP2* περιοχή σύνδεσης του miR-184 σχετίζεται με το γαστρικό καρκίνο [96]. Ο CC γονότυπος σχετίζεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης γαστρικού καρκίνου σε σχέση με τους γονότυπους TC και TT [56]. Η *TNFAIP2* είναι μια προαποπτωτική πρωτεΐνη η οποία αρχικά βρέθηκε ότι τα επίπεδα της μπορούσαν να ρυθμιστούν από τον παράγοντα νέκρωσης του όγκου (*TNFα*) στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας [56]. Αργότερα βρέθηκε ότι ρυθμίζεται και από άλλους παράγοντες όπως η ιντερλευκίνη 1β και επίσης ότι εκφράζεται στο εμβρυικό ήπαρ και νεφρό, στα γαμετικά κύτταρα του άρρενος και στους αιμοποιητικούς και λεμφικούς ιστούς [56]. Αν και η λειτουργία του γονιδίου *TNFAIP2* εξακολουθεί να είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη, έχει προταθεί ότι η *TNFAIP2* μπορεί να παίζει πολλαπλούς ρόλους στην ανάπτυξη των οργάνων, στην αγγειογένεση, στη διαφοροποίηση των κυττάρων του αίματος, στη μυελοποίηση και στη σπερματογένεση. Επιπλέον, βρέθηκε ότι το γονίδιο της είχε κατασταλεί σε κύτταρα μυελού ασθενών με οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία (APL) [56]. Παρά το γεγονός ότι η λειτουργία του παραμένει ασαφής, μερικές μελέτες έχουν δείξει το miR-184 ως πιθανό ογκογονίδιο [56]. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι ο SNP (rs8126T>C) στην 3'UTR του *TNFAIP2* περιοχή σύνδεσης του miR-184 σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο γαστρικού καρκίνου [56]. Παρόλα αυτά οι ίδιοι οι μελετητές έθεσαν κάποιους περιορισμούς στα αποτελέσματα αυτής της μελέτης καθώς οι ασθενείς ήταν όλοι καπνιστές και επίσης δεν είχαν πληροφορίες για πιθανή λοίμωξη τους από *H. Pylori*, καθώς είναι γνωστό ότι τόσο το κάπνισμα όσο και η λοίμωξη από το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες για την εμφάνιση της κακοήθειας [56].

Ο rs11614913 (C>T) στο miR-196a έχει μελετηθεί στον προχωρημένο γαστρικό καρκίνο και οι ασθενείς που φέρνουν το T αλληλίο έχουν καλύτερη πρόγνωση [92]. Το miR-196a έχει βρεθεί ότι προκαλεί διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων και καταστέλλει την απόπτωση [55]. Ο rs11614913 φαίνεται να οδηγεί σε εξασθενημένη λειτουργία miR-196a2, προτείνοντας ένα ρόλο καταστολής του όγκου

του συγκεκριμένου SNP στα καρκινικά κύτταρα [55]. Επίσης ο rs895819 στο miR-27a έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για γαστρικό καρκίνο και τα άτομα που φέρουν το αλληλίο C έχουν μεγαλύτερα επίπεδα του miR-27a και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της κακοήθειας αλλά και εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων [55]. Το miR-27a παίζει σημαντικό ρόλο στη παθογένεση του γαστρικού καρκίνου καθώς μειώνει την έκφραση του BCL-2 και άλλων αντι-αποπτωτικών γονιδίων [55]. Πιο συγκεκριμένα για τον rs895819 στο pre-miR-27a έχει βρεθεί ότι τα άτομα που φέρουν γονότυπους AG και GG έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε σχέση με αυτούς που έχουν γονότυπο AA [18].

Τα let 7 είναι μια οικογένεια miRNA η οποία αποτελείται από δέκα μέλη τα let-7a μέχρι let-7g, let-7i, miR-98 και miR-202 [57]. Η καταστολή της έκφρασης των let-7 έχει βρεθεί σε πολλές μελέτες ως σημαντικός παράγοντας στην προώθηση της καρκινικής εξαλλαγής [57]. Πολλά miRSNPs στα pri-miRNA γονίδια των let-7 έχουν βρεθεί σε ασθενείς τόσο με ατροφική γαστρίτιδα όσο και με γαστρικό καρκίνο και μπορούν να αποτελέσουν σημαντικό βιοδείκτη για την διάγνωση της κακοήθειας [57]. Ο CC γονότυπος του pri-let-7a-2 rs629367 έχει συσχετιστεί με αύξηση του κινδύνου για γαστρικό καρκίνο στην Ασιατική φυλή σε σχέση με το γονότυπο AA, πιθανώς λόγω απορρύθμισης της έκφρασης του ώριμου let-7a που προκαλεί ο πολυμορφισμός αυτός [57]. Επίσης στη συγκεκριμένη μελέτη βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης του ώριμου let-7 στο αλληλίο C γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με τον ρόλο του let-7 ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο [57]. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι η αλλαγή από A σε C στον rs629367 πιθανώς αλλάζει τον ρόλο του let-7 ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο και οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο για γαστρικό καρκίνο και χειρότερη πρόγνωση [57].

Επίσης οι rs11077 και rs14035 στα *XPO5* και *RAN* αντίστοιχα σχετίζονται με την εμφάνιση καρκίνου του οισοφάγου [15]. Η *XPO5* και *RAN* είναι απαραίτητα ένζυμα του μονοπατιού βιογένεσης των miRNA καθώς βοηθούν στην έξοδο των pre-miRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα [15]. Ο A/C rs6505162 ο οποίος βρίσκεται στο pre-miRNA του miR-423 σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του οισοφάγου [18].

3.4 SNPS σε miRNA και καρκίνος του πνεύμονα

Ο καρκίνος του πνεύμονα προκαλεί τους περισσότερους θανάτους από καρκίνο παγκοσμίως εξαιτίας της συχνότητας του και της επιθετικότητας του [58]. Ο καρκίνος του πνεύμονα έχει αιτιολογικά συσχετιστεί με το κάπνισμα [59]. Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου μεταξύ των καπνιστών είναι ανάλογη προς την διάρκεια καπνίσματος [59]. Κατά μέσο όρο, ένας καπνιστής έχει 20 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα σε σύγκριση με έναν μη καπνιστή [59]. Χωρίζεται σε δύο μεγάλες κλινικοπαθολογικές κατηγορίες τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και τον μικροκυτταρικό καρκίνο του

πνεύμονα [60]. Ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος αποτελεί το 80% και είναι λιγότερο επιθετικός σε σχέση με τον μικροκυτταρικό καρκίνο [60]. Αν η νόσος βρεθεί σε αρχικά στάδια η πενταετής επιβίωση είναι περίπου 50% με αυτήν να μειώνεται σε περιπτώσεις λεμφαδενικής συμμετοχής ή απομακρυσμένων μεταστάσεων [60].

Παρά τις πολλές πρόσφατες εξελίξεις στην έρευνα για τον καρκίνο του πνεύμονα, υπάρχουν λίγοι γνωστοί γενετικοί δείκτες για τον εντοπισμό των ασθενών που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση της νόσου [61]. Έτσι είναι επιτακτική ανάγκη η ανεύρεση βιοδεικτών που μαζί με τις υπάρχουσες στρατηγικές για διάγνωση, θεραπεία και πρόληψη θα βοηθήσουν στην αντιμετώπιση της νόσου [61].

Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει ότι ο πολυμορφισμός rs1564483 με αλλαγή γουανίνης σε αδενίνη που βρίσκεται στην 3'-UTR του *BCL2* έχει θεωρηθεί ως προστατευτικός παράγοντας στην εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα αλλά και αυξάνει την επιβίωση ασθενών που έχουν προσβληθεί από μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Ο πολυμορφισμός αυτός θεωρήθηκε από τους ερευνητές ότι αλλάζει τη δομή της 3'UTR περιοχής ή δημιουργεί νέα θέση σύνδεσης για τα miRNA στόχους επηρεάζοντας τα επίπεδα του *BCL2*. Πολλά miRNA έχουν βρεθεί να συνδέονται στη περιοχή 3'UTR του *BCL2* μεταξύ των οποίων τα miR-181b, miR-200bc/429,31 και miR-204,32. Έτσι διαταρράσσεται η ισορροπία μεταξύ προαποπτωτικών και αντιαποπτωτικών μονοπατιών με αποτέλεσμα να προστατεύονται τα κύτταρα του πνεύμονα από την καρκινογένεση [62]. Επίσης ένας άλλος πολυμορφισμός ο rs2240688, στην 3'UTR του *CD133* έχει θεωρηθεί ως προστατευτικός παράγοντας για την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα καθώς προκαλεί μείωση της έκφρασης του *CD133* το οποίο έχει συσχετιστεί με εμφάνιση καρκινογένεσης σε πολλά όργανα καθώς και με κακή πρόγνωση στους ασθενείς με αυτή την ασθένεια [63].

Έχουν επίσης μελετηθεί και αρκετοί πολυμορφισμοί οι οποίοι ασκούν επιβαρυντικό παράγοντα για την εκδήλωση της νόσου. Η οικογένεια let-7 των miRNA παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου και ανευρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Επίσης επηρεάζουν πολλά ογκογονίδια που σχετίζονται με αυτόν το τύπο καρκίνου όπως είναι το *RAS* [64]. Έτσι ανακαλύφθηκε ότι ένας πολυμορφισμός, ο rs61764370 στη 3'UTR του ογκογονιδίου *KRAS* περιοχή σύνδεσης του let-7, προκαλεί υπερέκφραση του *KRAS* και αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα σε καπνιστές [64]. Το let-7 έχει δειχθεί ότι καταστέλλει την έκφραση του *RAS*. Επίσης το let-7 βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και επίσης όσο πιο χαμηλά τα επίπεδα του τόσο χειρότερη είναι η πρόγνωση [59]. Ο πολυμορφισμός αυτός έχει βρεθεί αυξημένος σε ασθενείς με ιστορικό καπνίσματος σε σχέση με καπνιστές που δεν έχουν εμφανίσει τη νόσο, υποδεικνύοντας ότι ο

πολυμορφισμός αυτός αυξάνει την ευαισθησία στις τοξικές επιδράσεις του καπνίσματος [59]. Ο ίδιος πολυμορφισμός έχει συσχετιστεί αρκετά και με τον καρκίνο των ωοθηκών, το μελάνωμα, το καρκίνο του παγκρέατος, του εντέρου και τον καρκίνο του μαστού [11].

Ο rs3134615 στην 3' του ογκογονιδίου *MYCL1* επηρεάζει τη σύνδεση του hsa-miR-1827 προκαλώντας απορρύθμιση της έκφρασης του *MYCL1* και αυξάνει τη πιθανότητα για μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [65]. Επιπρόσθετα ο πολυμορφισμός rs11614913 που βρίσκεται στο pre-miRNA mir-196a2 έχει δύο αλληλίες το T και το C και σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο μη μικροκυτταρικού τύπου άλλα οι μηχανισμοί με τους οποίους αυτό σχετίζεται δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί [61]. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην απορρύθμιση γονιδίων που συμμετέχουν σε μονοπάτια σχετιζόμενα με το καρκίνο όπως το *HOX* που έχει βρεθεί από μελέτες ότι σχετίζεται με το καρκίνο του μαστού [61]. Οι άνθρωποι με γονότυπο CC εμφανίζουν υπερέκφραση του mir-196a χωρίς να επηρεάζονται τα επίπεδα του pre-miRNA και εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση [61].

Το *SET8* είναι ένα γονίδιο που ανήκει στην οικογένεια των SET και είναι μια μεθυλοτρανσφεράση η οποία παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές βιολογικές διαδικασίες [66]. Το *SET8* έχει βρεθεί να υπερεκφράζεται σε πολλές κακοήθειες συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του πνεύμονα [66]. Το *SET8* έχει ένα πολύ βασικό ρόλο στο μονοπάτι της p53 και μείωση του *SET8* αυξάνει τις ογκοκατασταλτικές λειτουργίες της p53 [66]. Ο rs16917496 (T>C) στην 3' UTR περιοχή σύνδεσης του mir-502 έχει μελετηθεί για τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [66]. Το C αλληλίο σχετίζεται με καλύτερη σύνδεση του mir-502 και μειωμένη έκφραση του *SET8* και σχετίζεται με καλύτερη επιβίωση σε ασθενείς με αυτή τη κακοήθεια [66]. Πιθανώς η μειωμένη έκφραση του *SET8* δρα σαν αναστολέας στην καρκινογένεση και την μετάσταση καρκινικών κυττάρων [66].

3.5 SNPs σε miRNA και ηπατοκυτταρικός καρκίνος

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα είναι μια συχνή κακοήθεια παγκοσμίως και τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην παθογένεση της νόσου με την μόλυνση με τον ιό της ηπατίτιδας B να αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την εμφάνιση της κακοήθειας [67]. Πολλοί από τους παράγοντες κινδύνου του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος μπορεί να προληφθούν όπως η ηπατίτιδα B και C, ο διαβήτης τύπου II, η παχυσαρκία, η αφλατοξίνη B1 και η κατάχρηση αλκοόλ [68]. Έντονη έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει σε μια αυξανόμενη κατανόηση της μοριακής βιολογίας της καρκινογένεσης που οδηγεί σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [68]. Ωστόσο, οι μοριακοί και κυτταρικοί μηχανισμοί που οδηγούν στην παθογένεση του είναι

ακόμα ανεπαρκώς κατανοητοί [68] . Υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν μια σχέση μεταξύ διαφορών της έκφρασης των miRNA και του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [68].

Ο πολυμορφισμός rs3783553 που βρίσκεται στο 3'UTR της ιντερλευκίνης 1^α (IL - 1α) ερευνήθηκε σε μια μελέτη πασχόντων μαρτύρων στο κινεζικό πληθυσμό για τη συσχέτιση του με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [69]. Η IL- 1α είναι μια κυτοκίνη που επηρεάζει το ανοσοποιητικό και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις , ρυθμίζει την ομοιόσταση του σώματος και έχει σημαντική επιρροή στην παθογένεση του καρκίνου του ήπατος [69]. Ο πολυμορφισμός αυτός επηρεάζει τη σύνδεση των miR - 122 και miR-378 και σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα IL1α [69]. Η διαφορά μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων ήταν πιο σημαντική στις ομάδες που εμφάνιζαν λοίμωξη από HBV παρότι στις ομάδες που ήταν HBV αρνητικοί, υποδεικνύοντας ότι ο πολυμορφισμός αυτός επηρεάζει την ανοσία απέναντι στην λοίμωξη από τον ιό [69]. Θεωρώντας ότι η IL- 1α δεν επηρεάζει μόνο διάφορες φάσεις της κακοήθους διεργασίας, δηλαδή την καρκινογένεση, την ανάπτυξη όγκου και την μετανάστευση καρκινικών κυττάρων, αλλά επίσης επηρεάζει και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κακοηθών κυττάρων και του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, είναι εμφανές ότι η IL-1α μπορεί να αποτελέσει ένα υποσχόμενο στόχο για ανοσοθεραπεία, για έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [69] .

29

Ο πολυμορφισμός rs4938723 (T>C) του pri-miR-34b/c που βρίσκεται σε θέση σύνδεσης ενός μεταγραφικού παράγοντα έχει συσχετιστεί με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα στον κινεζικό πληθυσμό [11]. Αν και ο πλήρης μηχανισμός δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί πιθανολογείται ότι ο πολυμορφισμός αυτός αναστέλλει τη σύνδεση του παράγοντα GATA με αποτέλεσμα μειωμένη έκφραση του mir-34 [11]. Είναι ήδη γνωστό από παλαιότερες μελέτες ότι μείωση του mir-34 εξασθενεί την διαμεσολαβούμενη από τη p53 απόπτωση και το σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου οδηγώντας τελικά σε καρκινογένεση [11]. Επιπλέον ο rs2910164 (G >C) _ έχει βρεθεί στο γονίδιο του miR-146a και έχει μελετηθεί στην εμφάνιση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [67]. Οι άνδρες με γονότυπο GG είναι πιο επιρρεπείς στην εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε σχέση με αυτούς που φέρουν γονότυπο CC, ανεξάρτητα από τη μόλυνση τους από τον ιό HBV [67]. Επίσης το G αλληλίο σχετίζεται με μεγαλύτερη παραγωγή του mir-146a σε σχέση με το αλληλίο C [67]. Είναι γνωστό ότι το mir-146 επάγει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και βοηθά στην μετανάστευση των κυττάρων [67]. Δύο πιθανοί στόχοι του miR - 146a, είναι ο υποδοχέας του παράγοντα νέκρωσης όγκου 6 και ο υποδοχέας της ιντερλευκίνη-1, τα οποία είναι βασικά μόρια των Toll υποδοχέων και των υποδοχέων κυτοκινών και παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ανάπτυξη και ανοσολογική αναγνώριση [67].

3.6 SNPs σε miRNA και καρκίνοι του ουροποιητικού συστήματος

Ο καρκίνος του νεφρού αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου λόγω κακοηθειών του ουροποιητικού συστήματος [44]. Είναι η πιο θανατηφόρα ουρολογική κακοήθεια και το 40% των ασθενών τελικά πεθαίνουν [44]. Το *GEMIN4* ανήκει σε μια οικογένεια γονιδίων τα προϊόντα των οποίων συμμετέχουν στην επεξεργασία του pre-miRNA [44]. Έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις στα γονίδια *GEMIN3* και *GEMIN4* σχετίζονται με κακοήθειες του νεφρού, της κύστεως και του οισοφάγου [44]. Οι πολυμορφισμοί rs7813 και rs910925 του *GEMIN4* σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνο του νεφρού ενώ ο rs3744741 σχετίζεται με καλύτερη επιβίωση [44]. Επίσης ο rs2740348 στο *GEMIN4* έχει μελετηθεί και στον καρκίνο του προστάτη με τα άτομα που φέρουν γονότυπο GC να έχουν κατά 36% μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [70]. Αντίθετα τα ομόζυγα άτομα για τον TT γονότυπο του rs7813 εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου [70]. Έχει βρεθεί ότι αλλαγή στην έκφραση των miR-224, miR-21, miR-let7, miR-100 και miR-218 λόγω διαταραχής της επεξεργασίας του *GEMIN4* σχετίζεται με την διεισδυτικότητα και την μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του προστάτη [70].

Επιπρόσθετα ο rs895819 (G>A) έχει μελετηθεί στην εμφάνιση καρκίνου των νεφρών [71]. Σε μια μελέτη στον Ασιατικό πληθυσμό, βρέθηκε ότι οι ασθενείς με γονότυπους AG/GG του πολυμορφισμού έχουν μικρότερο κίνδυνο εκδήλωσης καρκίνου του νεφρού σε σχέση με τους ασθενείς με γονότυπο AA [71]. Ο *HOXB5* ανήκει στην οικογένεια των HOX γονιδίων και έχει ένα πολυμορφισμό 1010A/G στην 3'UTR, περιοχή σύνδεσης του miR-7 [72]. Είναι γνωστή από πολλές μελέτες η συμμετοχή του *HOXB5* στη παθογένεση των καρκίνων του ουροποιητικού συστήματος και μάλιστα η αναστολή της έκφρασης του αναστέλλει την διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων της ουροδόχου κύστεως και την καρκινογένεση [72]. Τα άτομα που φέρουν το αλληλίο G δηλαδή αυτοί με γονότυπο AG ή GG έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε σχέση με αυτούς που έχουν γονότυπο AA [72].

Σε μια άλλη έρευνα ο T>C SNP (rs8679) στην *PARP1* 3' UTR περιοχή σύνδεσης του miR-145 σχετίζεται με καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, ενώ στην ίδια έρευνα ο A>G SNP (rs7180135) στην *RAD51* 3'UTR περιοχή σύνδεσης του miR-197 σχετίστηκε με καλύτερη ανταπόκριση στην ακτινοβολία στους ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστεως [11]. Επιπλέον ο rs2910164 ο οποίος βρίσκεται στο pri-miRNA του miR-146a έχει δύο αλληλίες τα C και G [18]. Έχει βρεθεί ότι το C αλληλίο σχετίζεται με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστεως και οι ασθενείς με γονότυπο GC/CC εμφανίζουν μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης σε σχέση με αυτούς που έχουν γονότυπο GG καθώς αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων της κύστεως [18].

3.7 SNPs σε miRNA και αιματολογικές κακοήθειες

Τα miRNA παίζουν σημαντικό ρόλο στην αιμοποίηση και στην διαφοροποίηση των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων με αποτέλεσμα η απορρύθμιση των miRNA να σχετίζεται με αιματολογικές κακοήθειες [28]. Στο τομέα των αιματολογικών κακοηθειών η πρώτη ένδειξη ότι τα SNPs μπορεί να σχετίζονται με αιματολογικές κακοήθειες δόθηκε με μια μελέτη το 2012 [42]. Σε αυτή τη μελέτη βρέθηκε ότι ο πολυμορφισμός rs187729 (T > C) στην 3'UTR περιοχή του *ARHGAP26* δημιουργεί μια νέα θέση σύνδεσης για το miR-18a-3p, προκαλεί μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης κατά 34% και έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας [28]. Η *ARHGAP26* (GRAF) ανήκει στην οικογένεια των Rho GTPase πρωτεϊνών και ασκεί την ογκοκατασταλτική της δράση αναστέλλοντας της έκφραση της RhoA [28]. Η RhoA είναι μια μικρή πρωτεΐνη η οποία συνδέεται με GTP και προκαλεί κακοήγη μετασχηματισμό κυττάρων μέσω του μονοπατιού RAS [28]. Το miR-18a έχει συσχετιστεί και με επιθετικά Β-λεμφώματα και με μείωση της επιβίωσης σε ασθενείς με αυτήν τη κακοήθεια [28].

Η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ) είναι η πιο συχνή λευχαιμία των ενηλίκων στις δυτικές χώρες [73]. Χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση Β λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, στο μυελό οστών, στο σπλήνα και / ή στους λεμφαδένες [73]. Η ΧΛΛ έχει αναφερθεί να έχει την υψηλότερη γενετική προδιάθεση από όλες τις αιματολογικές νεοπλασίες, με ένα ποσοστό 8,5 φορές αυξημένο σχετικό κίνδυνο σε συγγενείς πρώτου βαθμού [73]. Μέχρι σήμερα αρκετές αναφορές έχουν περιγραφεί για την τροποποιημένη έκφραση των miRNAs σε ΧΛΛ, γεγονός που υποδηλώνει την εμπλοκή τους στην ανάπτυξη της νόσου [84]. Σε μια έρευνα ανάμεσα σε 523 Ισπανούς, 132 ασθενείς και 391 μάρτυρες, με λήψη DNA από το περιφερικό αίμα, μελετήθηκαν πολυμορφισμοί σε miRNA και ο συσχετισμός τους με την εμφάνιση της ΧΛΛ [73]. Βρέθηκε λοιπόν ότι ο rs3805500 και rs6877842, βρίσκονται στο γονίδιο της *DROSHA* και το G αλληλίο του rs3805500 σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου [73]. Επιπλέον μελετήθηκαν ο rs1057035 στη *DICER1*, ο οποίος βρίσκεται στην 3'UTR περιοχή της *DICER*, περιοχή σύνδεσης του miR574-3p και ότι το C αλληλίο σχετίζεται με 2.7 μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης της κακοήθειας [73]. Είναι γνωστό ότι η *DICER* παίζει σημαντικό ρόλο στην μετατροπή των pre-miRNAs στην τελική τους ώριμη μορφή και ότι μεταλλάξεις *DICER* μπορεί να έχουν είτε προστατευτική είτε επιβαρυντική δράση ανάλογα με τον τύπο του όγκου [73]. Ως εκ τούτου, φαίνεται εύλογο ότι ο rs1057035 επηρεάζει τη δέσμευση του miR574-3p, η οποία με τη σειρά της πιθανώς να τροποποιεί τον ρόλο της *Dicer* και τον κίνδυνο της ΧΛΛ [73].

Επίσης μελετήθηκαν δύο SNPs στα pre-miRNAs που σχετίζονται με την ΧΛΛ, ο rs11614913 και ο rs2114358 στο miR-196a2 και miR-1206, αντίστοιχα. Ο γονότυπος

ΤΤ του rs11614913 σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της κακοήθειας ενώ οι AA και AG του rs2114358 ασκούν προστατευτικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου [73]. Είναι ενδιαφέρον ότι πιθανοί στόχοι του miR196-a2 περιλαμβάνουν γονίδια που έχουν συσχετιστεί με την ΧΛΛ, όπως το *CDKN1B* και το *HMOX1*. Επομένως, οι αλλαγές στην αλληλουχία του miR-196a2 η οποία μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία των miRNA, θα μπορούσε να συμβάλει στον κίνδυνο της ΧΛΛ λόγω της απορρύθμισης των στόχων της [73]. Τέλος, μελέτη των miR1206 rs2114358 AG και GG γονοτύπων έδειξε μειωμένο κίνδυνο της ΧΛΛ ενώ ο AA σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Το miR-1206 επηρεάζει τη μεταγραφή του γονιδίου *PVT1*, υπερέκφραση του οποίου παρατηρείται σε πολλές κακοήθειες [73].

Τα T-cell non-Hodgkin lymphomas (TCLs) αποτελούν σπάνιες κακοήθειες και αντιπροσωπεύουν το 12% όλων των λεμφωμάτων [74]. Η συχνότητα εμφάνισης αυτής της ασθένειας παρουσιάζει γεωγραφική ποικιλομορφία [74]. Στη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη, τα TCL αντιπροσωπεύουν μόνο περίπου το 5-10 % του συνόλου των λεμφωμάτων. Ωστόσο, στην Ασία, 15-25% των λεμφωμάτων είναι TCL και λεμφώματα NK- κυττάρου [74]. Οι γεωγραφικές διαφορές μπορεί να οφείλονται σε διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των γενετικών παραγόντων, την ατομική ευαισθησία, τον τρόπο ζωής, τη μόλυνση και την έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες [74].

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι μεταλλάξεις σε γονίδια –κλειδιά του μονοπατιού βιογένεσης των miRNA σχετίζονται με την ανταπόκριση του TCL στη χημειοθεραπεία και επομένως επηρεάζουν την επιβίωση αυτών των ασθενών [75]. Σε μια μελέτη το 2012 σε 163 ασθενείς της Ασιατικής φυλής ο rs3742330 A>G στην 3' UTR της DICER περιοχή σύνδεσης των has-miR-3622a-5p και has-miR-5582-5p συσχετίστηκε με την επιβίωση ασθενών με T-λεμφώματα [74]. Συγκεκριμένα οι ασθενείς με γονότυπο GG είχαν μεγαλύτερη επιβίωση σε σχέση με ασθενείς που έφεραν γονότυπο GA ή AA [74]. Η απορρύθμιση της έκφρασης των miRNA που προκαλεί αυτός ο πολυμορφισμός θα μπορούσε να είναι η αιτία της επίδρασης του πολυμορφισμού αυτού στην επιβίωση από τη νόσο καθώς SNPs στο γονίδιο της DICER έχουν συσχετιστεί με πολλές κακοήθειες [74]. Επίσης σε άλλες μελέτες έχει βρεθεί ότι ο πολυμορφισμός της DRSHA rs6877842, rs3742330 στη DICER, ο mir149 rs2292832, και ο mir499 rs3746444 σχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία [75].

Τα Hodgkin λέμφωμα (HL) είναι μια ιδιαίτερα ιάσιμη νεοπλασία των B-κυττάρων που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός σχετικά μικρού πληθυσμού κακοηθών κυττάρων όγκου, γνωστά ως κύτταρα Hodgkin / Reed-Sternberg (HRS) [76]. Η εισαγωγή του χημειοθεραπευτικού σχήματος MOPP (μεχλωρεθαμίνη, βινκριστίνη, προκαρβαζίνη και πρεδνιζόνη) αποτέλεσε την κορυφαία εξέλιξη για τη θεραπεία του HL, επιτυγχάνοντας ποσοστά πλήρους ανταπόκρισης που πλησιάζουν το 84%

και μακροπρόθεσμα την ελεύθερη νόσου επιβίωση (DFS), σε ποσοστό περίπου 66% [76]. Αργότερα, ωστόσο, ABVD (δοξορουβικίνη / βλεομυκίνη / βινμπλαστίνης / ντακαρμπαζίνη) έχειδειχθεί ότι έχει μια ανώτερη αναλογία κινδύνου-οφέλους, και ABVD ή MORPABVD (MORP εναλλάσσονται με ABVD) είναι πλέον το καθιερωμένο σχήμα χημειοθεραπείας για HL ανάλογα με το στάδιο της νόσου [76]. Σε ενήλικες ασθενείς που έχουν διαγνωσθεί με HL τα miR-SNPs στα γονίδια *XPO5* και *TRBP* μόνα τους και σε συνδυασμό έχουν χρησιμοποιηθεί σαν δείκτες για την παρακολούθηση της κλινικής πορείας και της τοξικότητας της χημειοθεραπείας [76]. Τόσο η *XPO5* όσο και *TRBP* είναι βασικά ένζυμα της βιογένεσης των miRNA και τόσο η *XPO5* που βρίσκεται στη πυρηνική μεμβράνη όσο και η *TRBP* που βρίσκεται στον κυτταρόπλασμα αλληλεπιδρούν με την DICER [76]. Στα Hodgkin λεμφώματα, ασθενείς ετερόζυγοι για τον πολυμορφισμό rs11077 στην 3'UTR που μειώνει τα επίπεδα της *XPO5* εμφάνισαν λιγότερη τοξικότητα από τη θεραπεία και μεγαλύτερη επιβίωση σε σχέση με ομόζυγους ασθενείς [77]. Πιο συγκεκριμένα ομόζυγοι ασθενείς με γονότυπο AA ή AC εμφανίζουν μεγαλύτερη πνευμονική τοξικότητα που οφείλεται στη μπλεομυκίνη από ότι οι ετερόζυγοι ασθενείς [76]. Ο ίδιος πολυμορφισμός έχει μελετηθεί και σε μια άλλη κακοήθεια το πολλαπλούν μυέλωμα όπου τόσο οι ομοζυγώτες όσο και οι ετεροζυγώτες για το C αλληλίο του rs11077 είχαν μεγαλύτερη επιβίωση [77]. Τέλος ο rs784567 στη *TRBP* έχει μελετηθεί στην θεραπεία του HL και οι ετερόζυγοι με γονότυπο TC ασθενείς εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση και πιο μικρό διάστημα ελεύθερο νόσου [76].

33

Ο πολυμορφισμός της DROSHA rs10035440 έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οξείας λεμφογενούς λευχαιμίας στα παιδιά ενώ ο rs9606248 και ο rs1640299 στον συμπαράγοντα της DROSHA, τον DGCR8, έχει συσχετιστεί με μείωση του κινδύνου εμφάνισης αυτής της κακοήθειας [77]. Επίσης ασθενείς με οξεία λεμφογενή λευχαιμία που φέρουν ένα SNP στο *XPO5*, τον rs34324334, εμφανίζουν μεγαλύτερη τοξικότητα στη θεραπεία [77].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1SNPs σε miRNA ως προγνωστικοί δείκτες σε κακοήθειες

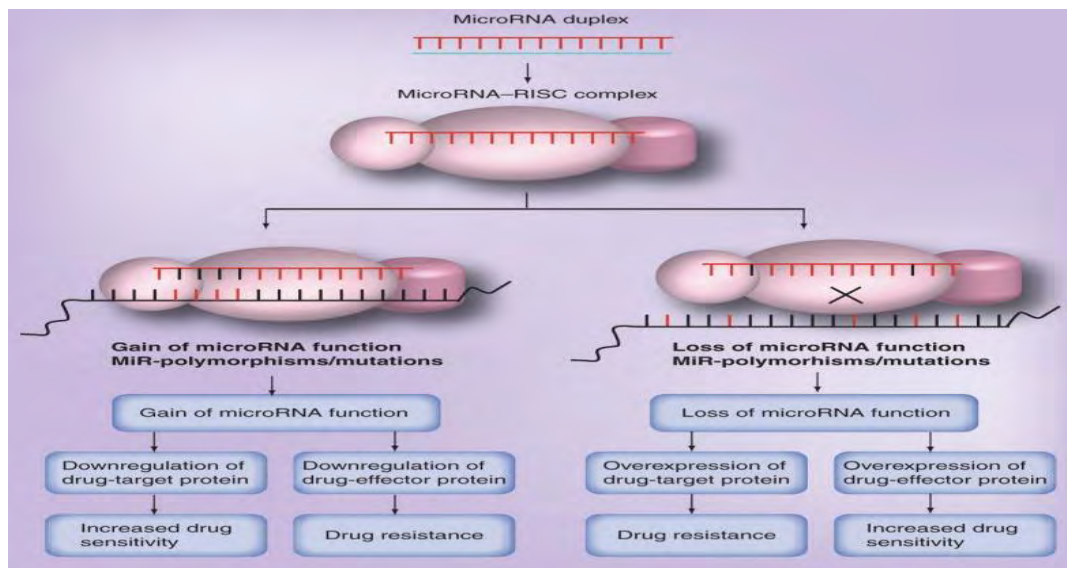
Οι προγνωστικοί βιοδείκτες δίνουν τη δυνατότητα παρακολούθησης της προόδου της αντικαρκινικής θεραπείας, την αξιολόγηση του σταδίου της νόσου καθώς και τη πρόγνωση και την ύφεση της νόσου [78]. Ένας καλός βιοδείκτης χαρακτηρίζεται από την ευαισθησία και την ειδικότητα του για ένα συγκεκριμένο τύπο καρκίνου καθώς και το γεγονός ότι η ποσότητα του θα πρέπει να αντανakλά την εξέλιξη της νόσου [78]. Αρκετές μελέτες επικεντρώθηκαν στην ανεύρεση πολυμορφισμών στα miRNA ή στα σημεία σύνδεσης τους με τα mRNA στόχους, ως προγνωστικοί δείκτες για τη πιθανότητα εμφάνισης ενός συγκεκριμένου είδους καρκίνου ή την πρόγνωση σε ασθενείς που είχαν ήδη εμφανίσει την ασθένεια [79]. Τα miRNA βρίσκονται στα

υγρό του σώματος όπως το πλάσμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό και έτσι μπορεί να αποτελέσουν βιοδείκτες για μη επεμβατική διάγνωση ασθενειών [5]. Επιπρόσθετα, miRNA του πλακούντα έχουν βρεθεί στο μητρικό πλάσμα προσφέροντας νέους ορίζοντες για προγεννητική διάγνωση [5]. Το πλάσμα έχει αποδειχθεί ως το πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα για την μέτρηση των κυκλοφορούντων miRNA [80]. Πράγματι έχει βρεθεί διαφορά μεταξύ των επιπέδων miRNA μεταξύ του ορού και του πλάσματος στον ίδιο ασθενή [80]. Η μεγαλύτερη ποσότητα που παρατηρείται στο πλάσμα οφείλεται στην απελευθέρωση miRNA από τα κύτταρα κατά τη διαδικασία της πήξης [80]. Καθώς πολλές προσπάθειες γίνονται τελευταία με σκοπό την εξατομίκευση της θεραπείας αντιλαμβανόμαστε ότι οι πολυμορφισμοί στα miRNA μπορεί να αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο για την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας για τον ασθενή αλλά και για την πρόγνωση της πορείας της ασθένειας αλλά και ως ένας επικουρικός δείκτης για την απόφαση της σωστής θεραπευτικής προσέγγισης [11].

4.2 SNPs σε miRNA και πως επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε διάφορες ασθένειες

Οι πολυμορφισμοί οι οποίοι βρίσκονται σε μια περιοχή σύνδεσης ενός miRNA μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα ενός φαρμάκου. Για παράδειγμα μπορούν να οδηγήσουν στην αυξημένη μεταγραφή της πρωτεΐνης στόχου του φαρμάκου (δηλαδή μιας πρωτεΐνης η οποία ενώνεται απευθείας με το φάρμακο οδηγώντας έτσι σε αύξηση της αντίστασης σε αυτό το φάρμακο) [26]. Στην αντίθετη περίπτωση αν ο στόχος είναι μια πρωτεΐνη η οποία ενισχύει τη δράση ενός φαρμάκου η υπερέκφραση αυτής της πρωτεΐνης εξαιτίας του πολυμορφισμού μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ευαισθησίας στο φάρμακο και συνεπώς μη αναμενόμενη τοξικότητα [26] [εικόνα 5].

Η φαρμακογενετική των miRNA αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας στη θεραπεία ασθενειών [49]. Ως φαρμακογενετική μπορεί να οριστεί η μελέτη των miRNA και των miRSNPs στα γονίδια στόχους τους με σκοπό να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας [49]. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ένα SNP 829C→T στην 3'UTR της διυδροφυλλικής αναγωγής εμποδίζει τη σύνδεση του miR24 και σχετίζεται με αντίσταση στη δράση της μεθοτρεξάτης [49]. Η μεθοτρεξάτη είναι ένα φάρμακο που χρησιμοποιείται ευρέως για την θεραπεία της οξείας λευχαιμίας, του non-Hodgkin's λεμφώματος, στον καρκίνο του μαστού, στα οστεοσαρκώματα, στον καρκίνο της κεφαλής και του τραχήλου και στη θεραπεία του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως [49]. Επίσης χρησιμοποιείται και σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η ψωρίαση [49]. Έτσι η μελέτη αυτού του πολυμορφισμού θα μπορούσε να αποτελέσει νέο στόχο για εξατομικευμένη θεραπεία ασθενών με τις παραπάνω ασθένειες.



Εικόνα 5 :παρουσιάζεται ένα μοντέλο επίδρασης πολυμορφισμών σχετιζόμενων με miRNA και αποτελεσματικότητας φαρμακευτικής θεραπείας [14].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1 miRNA και συνοδοί πολυμορφισμοί στη προδιάθεση ανάπτυξης ρευματοειδούς αρθρίτιδας και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος η οποία χαρακτηρίζεται από υπερτροφία, υπερπλασία και αγγειογένεση του ινώδους ιστού συμβάλλοντας στη καταστροφή των αρθρώσεων [81]. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα προσβάλλει το 1% των καυκάσιων και 0.3 % των ασιατών και προσβάλλει τρεις φορές περισσότερο τις γυναίκες από ότι στους άνδρες [81]. Η ΡΑ μπορεί να προσβάλλει όλα τα συστήματα αλλά οι εκδηλώσεις της είναι κυρίως στις αρθρώσεις, προκαλώντας ακόμα και σοβαρού βαθμού αναπηρία [81]. Παρόλο που είναι ένα πολυπαραγοντικό νόσημα οι γενετικοί παράγοντες συμβάλλουν στο 60 % στην παθογένεση της νόσου [81]. Το miR-146 έχει βρεθεί αυξημένο σε πολλές αυτοάνοσες διαταραχές συμπεριλαμβανομένης και της ΡΑ [82]. Ο πολυμορφισμός rs3027898 στην (A>C) στην 3'UTR του *IRAK1* (interleukin-1 receptor-associated kinase) στόχο του miR-146a, σχετίζεται με την εμφάνιση ΡΑ [82].

Η μυασθένεια Gravis (MG) είναι μια νευρομυϊκή διαταραχή, αυτόανοση, η οποία χαρακτηρίζεται από υφέσεις και εξάρσεις, βελτιώνεται με την ανάπαυση και χειροτερεύει με την άσκηση [82]. Παρόλο που είναι συνήθως σποραδική, παρόλα αυτά οικογενής προδιάθεση έχει αναφερθεί με το 4% των ασθενών να έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό [82]. Ένας μεγάλος αριθμός SNPs σε γονίδια σχετιζόμενα με τη νόσο έχουν μελετηθεί με σκοπό να ανιχνευτούν όλοι οι παθογενετικοί μηχανισμοί οι οποίοι σχετίζονται με την νόσο [82]. Ο rs28457673 C>G στη 3' UTR περιοχή *IGF1R* (insulin-like growth factor 1) έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την

μυασθένεια Gravis [82]. Πολλές μελέτες έχουν δείξει αυξημένη έκφραση του IGFR1 και του υποδοχέα του IGF1R στον παθολογικό θύμο αδένες ασθενών με μυασθένεια Gravis [82]. Αυτός ο πολυμορφισμός επηρεάζει τη σύνδεση του *IGFR1* με πολλά miRNA όπως τα miR-497, miR-15a, miR-15b, miR-16, και miR-195 [82]. Δεδομένου ότι πολλές μελέτες έχουν αποδείξει τη μειωμένη έκφραση των miR-497, miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-195 στον θύμο αδένες ασθενών γίνεται αντιληπτό ότι ο πολυμορφισμός αυτός ευθύνεται για την αυξημένη έκφραση του IGFR1 και συνεπώς την εκδήλωση της ασθένειας καθώς αναστέλλεται η ρύθμιση του από τα παραπάνω miRNA [82]. Επιπρόσθετα ο rs4987856 (C>T) στην περιοχή σύνδεσης του miR-195 επηρεάζει τη σύνδεση του με το αντιαποπτωτικό γονίδιο *BCL2* και σχετίζεται με την μυασθένεια Gravis [82]. Το *BCL2* έχει μελετηθεί και έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα στο θύμο αδένες ασθενών με μυασθένεια Gravis και μάλιστα τα επίπεδα του σχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου [82].

Ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (ΣΕΛ) είναι μια αυτοάνοση διαταραχή με έντονη κληρονομική προδιάθεση η οποία χαρακτηρίζεται από διαταραχή στο μονοπάτι της ιντερφερόνης τύπου I [83]. Πολλά γονίδια που σχετίζονται με το μονοπάτι της INF όπως τα *TYK2*, *IRF5*, και *STAT4* έχουν βρεθεί και συσχετιστεί με τον ΣΕΛ [83]. Επίσης έχει βρεθεί ότι μείωση του miR-146a συμβάλλει σε διαταραχές του μονοπατιού της ιντερφερόνης τύπου I (INF1) σε ασθενείς με ΣΕΛ [83]. Ο rs57095329*G (G/A) στη περιοχή του υποκινητή του πρόδρομου μορίου του miR-146a έχει συσχετιστεί με συστηματικό ερυθματώδη λύκο στον Ασιατικό πληθυσμό [80]. Ο πολυμορφισμός αυτός αποδυναμώνει τη σύνδεση του μεταγραφικού παράγοντα Ets-1 στον υποκινητή του miR-146a, οδηγώντας σε μειωμένη έκφραση του και συνεπώς απορρύθμιση του μονοπατιού της INF I [83]. Είναι επίσης γνωστό ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων Toll (toll-like receptors TLRs) σχετίζονται με την παθογένεια του ΣΕΛ [54]. Οι υποδοχείς αυτοί αντιδρούν στην ύπαρξη πυρηνικών αντιγόνων, ενεργοποιούν την INF1 παίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της νόσου [84]. Έτσι ο rs3853839 (G>C) στην 3' UTR του TLR7 εμποδίζοντας τη σύνδεση του miR-3148 προκαλεί υπερέκφραση των υποδοχέων και έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση ΣΕΛ σε ευρωπαϊκούς, αμερικανικούς και ασιατικούς πληθυσμούς [84].

Ο SPI1 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ανήκει στην οικογένεια των Ets μεταγραφικών παραγόντων και παίζει σημαντικό ρόλο στην διαφοροποίηση μυελογενών και λεμφικών κυττάρων [85]. Βρέθηκε ότι η έκφραση του SPI1 είναι υψηλότερη στα κοκκιοκύτταρα και μακροφάγα, μέτρια στα Β-κύτταρα, ενώ απουσιάζει στα Τ-κύτταρα [85]. Επίσης η έκφραση της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών ελέγχεται από τον SPI1 με αποτέλεσμα υπερέκφραση του να οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή αυτοαντισωμάτων [85]. Επιπλέον η έκφραση των γονιδίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας επηρεάζεται από τον SPI1 και επίσης στα μακροφάγα ο SPI1 επηρεάζει την έκφραση

της κυκλοοξυγενάσης [85]. Αλλαγές στην έκφραση αυτών των γονιδίων θα μπορούσαν επίσης να διαδραματίσουν ένα σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του ΣΕΛ [85]. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι δίδυμα αδέρφια με ΣΕΛ εμφάνιζαν υπερέκφραση του SPI1 παράγοντα σε σχέση με δίδυμους που δεν εμφάνιζαν τη νόσο [85]. Έτσι βρέθηκε ότι ο rs1057233 (T>C) στην 3'UTR περιοχή του SPI1 εμπόδιζε τη σύνδεση του miR-569 και επομένως την μείωση της έκφρασης του SPI1 που προκαλείται από το miR-569 με αποτέλεσμα την εμφάνιση ΣΕΛ [85].

Επιπρόσθετα ένας άλλος πολυμορφισμός στο miR-146a ο rs2910164 έχει συσχετιστεί με εμφάνιση νόσου Αδαμαντιάδη- Behcet's [86].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1 SNPS σε miRNA και σακχαρώδης διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια διαταραχή της ομοιόστασης της γλυκόζης [87]. Στο πάγκρεας τα β-κύτταρα και τα α-κύτταρα παράγουν ινσουλίνη και β-γλυκαγόνο αντίστοιχα σε απάντηση προς τα επίπεδα της γλυκόζης [87]. Τόσο στο διαβήτη τύπου 1 όσο και στο διαβήτη τύπου 2 οι ασθενείς εμφανίζουν μακροχρόνιες επιπλοκές όπως νεφροπάθεια και νεφρική ανεπάρκεια, νευροπάθεια, τύφλωση, ισχαιμικά έμφρακτα και άλλα [87]. Μελέτες δείχνουν ότι τα miRNA συμμετέχουν στη βιοσύνθεση και απελευθέρωση της ινσουλίνης, στην ανάπτυξη και επιβίωση των β-κυττάρων, στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων καθώς επίσης συμμετέχουν και στην εμφάνιση των δευτεροπαθών επιπλοκών του διαβήτη [87]. Αποδιοργάνωση της έκφρασης των miRNA στο διαβήτη έχει παρατηρηθεί και σε πειραματόζωα και στον άνθρωπο υποδεικνύοντας το καθοριστικό ρόλο των miRNA στην παθογένεση της νόσου [87]. Ο διαβήτης τύπου 2 είναι η πιο συχνή ενδοκρινολογική και μεταβολική ασθένεια στο δυτικό πληθυσμό και πρόσφατα και στους Ασιάτες και χαρακτηρίζεται από μακροχρόνια υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα [88]. Τα επίπεδα των miR-9, miR-29a, miR-30d, miR-34a, miR-124a, miR-146a, και miR-375 έχουν βρεθεί σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη σε σχέση με ανθρώπους που δεν εμφανίζουν τη νόσο [89]. Σε μια έρευνα που έγινε στον κινεζικό πληθυσμό έδειξε ότι ο rs531564 (G>C) στο miR-124a μειώνει το κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη σε άτομα ηλικίας κάτω των 45 ετών ενώ ο γονότυπος CC του rs895819 στο miR-27a αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη σε παχύσαρκους ασθενείς [89]. Αυτό υποδεικνύει ότι το miR-27 καταστέλλει την διαφοροποίηση των λιποκυττάρων εμποδίζοντας την έκφραση του PPAR-γ (peroxisome proliferator-activated receptor-γ) και του CCAAT (enhancer-binding protein alpha) οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην λιπογένεση [88]. Επίσης η υπερέκφραση του miR-124a συμβάλλει στην ανάπτυξη της παγκρεατικής λειτουργίας και μειώνει την έκφραση της ινσουλίνης [88]. Έτσι οι πολυμορφισμοί rs895819 και rs531564 επηρεάζουν την έκφραση των miR-27a και miR-124a και επομένως των

στόχων τους δηλαδή τη λιπογένεση, την παγκρεατική λειτουργία και την έκκριση της ινσουλίνης [89].

Μελέτες έχουν δείξει ότι το miR-34a παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος [90]. Επίσης κατά την απόπτωση των β-κυττάρων παράγονται προφλεγμονώδεις κυτοκίνες οι οποίες αυξάνουν στο τριπλάσιο ή και στο τετραπλάσιο την έκφραση του miR-34a και αντιθέτως αναστολή του miR-34a έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση του ερεθίσματος που απαιτείται για την απόπτωση των β-κυττάρων [90]. Έτσι το miR-34 παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην λειτουργία των β-κυττάρων και πολυμορφισμοί του μπορεί να επηρεάσουν την έκκριση ινσουλίνης [90]. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι ο rs72631823 (G>A) στο pre-miR-34 οδηγούσε σε μεγαλύτερη έκφραση του miR-34 [91]. Η υπερέκφραση αυτή οδηγούσε σε αυξημένη απόπτωση των β-κυττάρων και πιθανώς συνέβαλε στην παθογένεση της νόσου [91]. Αυτός ο συσχετισμός πρέπει να αξιολογηθεί περισσότερο και με άλλες μελέτες [91].

Πρόσφατα ένας πολυμορφισμός στη 3'-UTR του *IGF2R* (human insulin-like growth factor 2 receptor) περιοχή σύνδεσης του miR-657 και miR-453 βρέθηκε να σχετίζεται με την εμφάνιση του διαβήτη τύπου II [14]. Ο πολυμορφισμός αυτός αναστέλλει τη ρύθμιση του *IGF2R* από το miR-657 και miR-453 και πιθανώς προκαλεί την εμφάνιση του σακχαρώδη διαβήτη [14].

39

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7.1 Πολυμορφισμοί σε miRNA και προδιάθεση για πνευμονική και καρδιακή νόσο.

Το άσθμα είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος των πνευμόνων που ενεργοποιείται με την επίδραση αλλεργιογόνων και διεγείρεται μέσω των βοηθητικών CD4 T – λεμφοκυττάρων που εκκρίνουν IL-2, IL-4, IL-5, IL-9 και IL-13 [80]. MiRNA τα οποία επιπλέκονται στη παθογένεση του άσθματος είναι το let-7b, miR-21, -106a, -126, -145, -146a, -146b, -155, -181a, και -221, let-7 οικογένεια και miR-20b, -133a, -146a, -146b, και -28-5p [80].

Σε μια μελέτη πασχόντων μαρτύρων σχετικά με την αναζήτηση παθογενετικών παραγόντων για την εμφάνιση του άσθματος βρέθηκε ότι το rs2910164*C αλληλίο (C/G) στο pre-miRNA του miR-146a και το rs2292832*T (C/T) στο miR-149 σχετίζονται με μικρότερη πιθανότητα για εμφάνιση άσθματος [80].

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια αποτελεί την τέταρτη αιτία θανάτου παγκοσμίως με το κάπνισμα να αποτελεί τον κυριότερο προδιαθεσικό παράγοντα [92]. Έχει βρεθεί ότι ο πολυμορφισμός rs2910164 στο πρόδρομο miR-146a επηρεάζει την επεξεργασία του miR-146a μειώνοντας το ανασταλτικό του δράση

στα γονίδια στόχους του δηλαδή την κυκλοοξυγενάση 2 [92]. Έτσι αυξάνεται η έκφραση της κυκλοοξυγενάσης 2 (COX2) και του παραγώγου της προσταγλανδίνη 2 (PDG2) βελτιώνοντας την πνευμονική λειτουργία στους ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια [92]. Η προστατευτική δράση της PDG2 εναντίον της φλεγμονής και της ίνωσης στα κύτταρα του πνεύμονα έχει μελετηθεί αρκετά με αποτέλεσμα να αυξάνει τον FEV1 σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια [92].

Η αρτηριακή υπέρταση είναι μια πολύπλοκη διαταραχή η οποία οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες, σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες [93]. Η ανθρώπινη αγγειοτενσίνη II παίζει σημαντικό ρόλο στην φυσιολογία και στην εξέλιξη των καρδιακών παθήσεων και στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και έτσι έχει δοθεί μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για την ανεύρεση πολυμορφισμών στο σύστημα της αγγειοτενσίνης που πιθανώς να σχετίζονται με την εμφάνιση αρτηριακής υπέρτασης [93]. Οι περισσότερες αποκρίσεις στην αγγειοτενσίνη συμβαίνουν μέσω του υποδοχέα τύπου 1 (*AGTR1*) ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των G πρωτεϊνών [93]. Το γονίδιο *AGTR1* θεωρείται αρκετά μεταβλητό και πάνω από 50 πολυμορφισμοί έχουν βρεθεί [93]. Ο πολυμορφισμός rs5186 (A>C) ο οποίος βρίσκεται στην 3' UTR έχει μελετηθεί αρκετά και έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με αρτηριακή υπέρταση και άλλες καρδιαγγειακές παθήσεις [93]. Αυτός ο πολυμορφισμός βρίσκεται στη θέση σύνδεσης του hsa-miR-155 και η παρουσία του A αλληλίου οδηγεί σε μείωση του ώριμου miRNA οδηγώντας στη αύξηση της έκφρασης του *AGTR1* [93]. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η πρωτεΐνη *AGTR1* έχει συσχετιστεί με συστολική και διαστολική πίεση αντιλαμβανόμαστε τη θετική συσχέτιση αυτού του πολυμορφισμού με την υπέρταση [93].

Παρά τις εξελίξεις στη πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία της στεφανιαίας νόσου τις τελευταίες δεκαετίες, η στεφανιαία νόσος αποτελεί μια από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στο κόσμο [94]. Πολλοί περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες συμβάλλουν στην παθογένεση της νόσου [94]. Το miR-1 έχει βρεθεί στο καρδιακό μυ και αλλαγή στην έκφραση του παρατηρείται στην στεφανιαία νόσο και στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου υποδεικνύοντας τον καθοριστικό ρόλο του miR-1 στην καρδιαγγειακή λειτουργία [94]. Βρέθηκε ότι το miR-1 προστατεύει τη καρδιά από την ισχαιμία και ασθενείς με στεφανιαία νόσο εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα του miR-1 [94]. Βρέθηκε ότι ο rs9548934 (C>T) στο γονίδιο *COG6* (Component of Oligomeric Golgi Complex 6), γονίδιο στόχο του miR-1 μειώνει το κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [94]. Πιο συγκεκριμένα οι ασθενείς με γονότυπο TT ή CT έχουν 26% και 34% αντίστοιχα λιγότερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε σχέση με τους ασθενείς με γονότυπο CT [94].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

8.1 SNPs σε miRNA και παθήσεις του γαστρεντερικού

Η νόσος του Crohn μαζί με την ελκώδη κολίτιδα ανήκουν στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου [95]. Η συχνότητα της είναι αρκετά μεγάλη με αποτέλεσμα 1 στους 500 να εμφανίζουν τη νόσο στην Ευρώπη και στην Αμερική, εμφανίζοντας μεγάλη νοσηρότητα και θνησιμότητα [95]. Ο πολυμορφισμός rs10065172 ο οποίος βρίσκεται στη 3' UTR περιοχή του γονιδίου *IRGM* έχει πρόσφατα συσχετιστεί με την εμφάνιση της νόσου του Crohn [93]. Ο πολυμορφισμός αυτός επηρεάζει την έκφραση του *IRGM* από το miR-196 με αποτέλεσμα να επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της αυτοφαγίας και επομένως έχει σοβαρές επιπτώσεις στην έκβαση της φλεγμονής του εντέρου [93]. Το *IRGM* ανήκει στην οικογένεια Immunity-Related GTPase (*IRG*) πρωτεϊνών που αποτελούν έναν από τους πιο ισχυρούς μηχανισμούς αντίστασης εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών όπως Gram θετικά και gram αρνητικά μικρόβια, μυκοβακτηρίδια και πρωτόζωα [95]. Είναι ήδη γνωστό από το 2007 ότι το σχετιζόμενο με την αυτοφαγία γονίδιο *IRGM* (immunity-related GTPase M) επιπλέκεται στην εμφάνιση της νόσου του Crohn [95].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

9.1 SNPs σε miRNA και προβλήματα γονιμότητας

Πολλές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην ανεύρεση πολυμορφισμών σε miRNA οι οποίοι μπορεί να σχετίζονται με την εμφάνιση ανδρικής υπογονιμότητας [96]. Η υπογονιμότητα εμφανίζεται στο 10-15 % των ζευγαριών παγκοσμίως και το 50% των αιτιών οφείλονται στους άνδρες [96]. Η παρουσία των miRNA στο σπερματικό υγρό και η συμβολή τους στην διαδικασία της σπερματογένεσης είναι γνωστή εδώ και αρκετά χρόνια [96]. Λαμβάνοντας υπόψιν τους πολλαπλούς ρόλους των miRNA στη διαδικασία της σπερματογένεσης γίνεται αντιληπτό ότι οποιοσδήποτε SNP σε γονίδια που σχετίζονται με το αναπαραγωγικό σύστημα του ανδρός μπορεί να προκαλέσει ανδρική υπογονιμότητα [96]. Έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα των miR-34c-5p, miR-122, miR-146b-5p, miR-181a, miR-374b, miR-509-5p, και miR-513a-5p είναι χαμηλότερα σε άνδρες με αζωοσπερμία και υψηλότερα σε άνδρες με ολιγοσπερμία σε σχέση με αυτούς που δεν έχουν πρόβλημα υπογονιμότητας [96]. Έξι πολυμορφισμοί σε γονίδια που σχετίζονται με τη διαδικασία της σπερματογένεσης δύο στο *CYP19* και *SERPINA5* και τέσσερις στα *CGA*, *CPEB1* και *CPEB2*, σχετίζονται με μείωση της έκφρασης των γονιδίων στη διαδικασία της σπερματογένεσης και της μείωσης, επειδή εμποδίζουν τη σύνδεση συγκεκριμένων miRNA [96]. Βρέθηκε ότι ο rs6631 (T>A) εμποδίζει τη σύνδεση του miR-1302 στο γονίδιο *CGA* προκαλώντας την υπερέκφραση του *CGA* και σχετίζεται με ανδρική υπογονιμότητα στον Ασιατικό πληθυσμό [96]. Και άλλοι πολυμορφισμοί στα γονίδια της Droscha (rs10719,

rs2291109, rs17409893 και rs642321) και της Dicer (rs13078, rs1057035 και rs12323635) έχουν συσχετιστεί με ανδρική υπογονιμότητα [96]. Έτσι γίνεται αντιληπτό ότι οι παραπάνω πολυμορφισμοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί προγνωστικοί δείκτες για την ανδρική υπογονιμότητα [96].

Η πιθανότητα της τυχαίας αποβολής κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι περίπου 30% [97]. Παρόλα αυτά 5% των γυναικών θα αντιμετωπίσουν δύο ή περισσότερες αποβολές [97]. Έτσι η εμφάνιση δύο ή περισσότερων αποβολών θεωρείται ξεχωριστή οντότητα που ονομάζεται καθέξιν αποβολές και απαιτεί περισσότερο έλεγχο και θεραπεία σε ορισμένες περιπτώσεις [97]. Τα σημαντικά ένζυμα της βιογένεσης των miRNA DROSHA, XPO5, και DICER, έχουν βρεθεί στα τροφοβλαστικά κύτταρα υποδεικνύοντας τον σημαντικό ρόλο των miRNA στη δημιουργία του πλακούντα [97]. Σε μια ενδιαφέρουσα έρευνα που αφορούσε γυναίκες στη Κορέα βρέθηκε ότι ο SNP της DICER rs3742330 και πιο συγκεκριμένα ο γονότυπος GG είχε σημαντική συσχέτιση με τις καθέξιν αποβολές όταν συσχετιζόταν με τον γονότυπο TC ή TT του rs10719 της DROSHA [97].

Υπάρχουν διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί που εξηγούν γιατί οι πολυμορφισμοί Dicer σχετίζονται με τις αποβολές [97]. Πολυμορφισμός της Dicer μπορεί να επηρεάσει το ενδομήτριο και να προκαλέσει δυσκολία την εμφύτευση εμβρύων, με αποτέλεσμα καθέξιν αποβολές [97]. Μια πρόσφατη μελέτη με τη χρήση ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων έδειξε ότι αναστολή της DICER επηρέαζε την έκφραση δεικτών και παραγόντων, όπως μεταγραφική των PRL και HOXA10 - που παίζουν ρόλο κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης [97]. Επίσης η DICER συμμετέχει στην διαμόρφωση του πλακούντα επηρεάζοντας προμιτογόνα μόρια σηματοδότησης μέσω miRNA [97]. Η ακριβής αιτιολογία που συνδέει τους πολυμορφισμούς με τις καθέξιν αποβολές και η συσχέτιση τους με τον πολυμορφισμό στην Drosha μένει να μελετηθεί περαιτέρω [97].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

10.1 SNPS ΣΕ MIRNA ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Η οστεοπόρωση είναι ένα νόσημα που χαρακτηρίζεται από ευθραστότητα των οστών και αυξημένο αριθμό καταγμάτων στους ηλικιωμένους [98]. Η οστεοπόρωση και ο μεγαλύτερος παράγοντας κινδύνου της, η μειωμένη οστική πυκνότητα γίνονται μεγάλο αντικείμενο μελετών για την ανεύρεση γενετικών παραγόντων [81]. Ο *FGF2* (Fibroblast growth factor) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του οστού, στη ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής και έχει τόσο άμεσες όσο και έμμεσες επιπτώσεις στο σχηματισμό των οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση [98]. Βρέθηκε ότι ο rs6854081 (T> G) στην 3' UTR του *FGF2* περιοχή σύνδεσης του miR-146a και miR-146b μειώνει την ικανότητα σύνδεσης των miRNA [98]. Έτσι εμποδίζεται η αποδόμηση του FGF2 με αποτέλεσμα αυξημένη δράση του

στα οστά που οδηγεί σε μειωμένη οστική πυκνότητα και συνεπώς οστεοπόρωση [98].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

11.1 Πολυμορφισμοί σε miRNA σε νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές

Πολλά miRNA είναι παρόντα στο νευρικό σύστημα και συμμετέχουν σε πολλές βιολογικές και παθολογικές διαδικασίες του εγκεφάλου με το miR-146 a να αποτελεί ένα από αυτά. [99].

Η νόσος Alzheimer disease (AD) είναι μία νευροεκφυλιστική διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια της μνήμης και άλλων γνωστικών λειτουργιών [99]. Αν και οι παθογενετικοί μηχανισμοί είναι περίπλοκοι και δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί παρόλα αυτά πιστεύεται ότι η εναπόθεση β-αμυλοειδούς στον εγκέφαλο και οι προκαλούμενες από αυτήν την ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις ευθύνονται για την παθογένεση της νόσου [99]. Είναι γνωστό ότι το miR-146 το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5q33.3 παίζει έναν σημαντικό ρόλο στη ανοσολογική απάντηση καθώς και στην φλεγμονή [99]. Ο rs57095329 (G/A) στον υποκινητή του miR-146 a σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του miR-146a και αύξηση των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β και IL-6 γεγονός που έχει αποδειχτεί ότι σχετίζεται με την παθογένεια την νόσου (AD) [99]. Ο πολυμορφισμός αυτός βρίσκεται στη περιοχή σύνδεσης του μεταγραφικού παράγοντα Ets-1 προκαλώντας αυξημένη έκφραση του miR-146a [99]. Ο ίδιος πολυμορφισμός έχει συσχετιστεί και με την εμφάνιση συστηματικού ερυθηματώδους λύκου όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

Πολλές μελέτες σχετικά με τη νόσο του Parkinson έχουν συνδέσει τον rs12720208 στη 3'-UTR του *FGF20* (fibroblast growth factor 20) με την εμφάνιση της νόσου [26]. Μια έρευνα που περιελάμβανε 729 οικογένειες με 1089 ασθενείς και 1165 μάρτυρες, πρότεινε ότι ο πολυμορφισμός αυτός εμποδίζει τη σύνδεση του miR-433 και αυξάνει την έκφραση του *FGF20* [26]. Το γονίδιο *FGF20* έχει συσχετιστεί με τη νόσο του Parkinson με αποτέλεσμα οι ασθενείς που φέρουν rs12720208 να έχουν προδιάθεση για εμφάνιση της νόσου [26].

Ο rs12593813, πολυμορφισμός στη 3'UTR του *MAP2K5* (mitogen activated protein kinase gene) αλλάζει την ικανότητα σύνδεσης για το miR-330-3p και σχετίζεται με την εμφάνιση διαφόρων ψυχιατρικών διαταραχών σε μελέτες που έχουν γίνει σε ευρωπαϊκό αλλά και αμερικανικό πληθυσμό [100]. Το γονίδιο *MAP2K5* έχει συσχετιστεί με το σύνδρομο "ανήσυχων άκρων" (restless legs syndrome RLS), την αγχώδη διαταραχή και την κατάθλιψη που συνήθως συνυπάρχουν με αυτό το σύνδρομο [100]. Τόσο το miR - 330-3p όσο και *MAP2K5* εκφράζονται στον εγκέφαλο

και βρίσκονται σε αφθονία στην περιοχή του υποκάμπου, μια περιοχή που έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση αγχώδους διαταραχής αλλά και κατάθλιψης [100].

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ο πολυμορφισμός var321-SLITRK1 στη 3'-UTR του γονιδίου *SLITRK1* έχει συσχετιστεί με το σύνδρομο Tourette και το σύνδρομο ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας στα παιδιά [14]. Το γονίδιο αυτό εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στον εγκέφαλο και φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των νευρώνων [14]. Ο πολυμορφισμός αυτός ενισχύει την ήδη υπάρχουσα θέση σύνδεσης του miR-189 με αποτέλεσμα την πιο αυστηρή ρύθμιση του γονιδίου που πιθανώς να σχετίζεται με την εμφάνιση του συνδρόμου [101]. Είναι γνωστό ότι έλλειψη του γονιδίου του υποδοχέα της σεροτονίνης έχει συσχετιστεί με εμφάνιση επιθετικής συμπεριφοράς στα ποντίκια [101]. Σε μια μελέτη 359 φοιτητών βρέθηκε ότι ο A>G πολυμορφισμός (rs13212041) στο *HTR1B* , που επηρεάζει τη σύνδεση για το miR-96 βρέθηκε να σχετίζεται με επιθετική συμπεριφορά στους ανθρώπους [101]. Πιο συγκεκριμένα άτομα με το αλληλίο A έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα για εμφάνιση συμπεριφορικών διαταραχών σε σχέση με αυτούς που φέρουν το αλληλίο G.

Η σχιζοφρένεια και η διπολική διαταραχή προσβάλλει 25% των ενηλίκων ετησίως στις ΗΠΑ [102]. Το miR-137 έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση της σχιζοφρένειας καθώς γονίδια που σχετίζονται με την νόσο όπως τα *CSMD1*, *C10orf26*, *CACNA1C*, *TCF4* και *ZNF804A* αποτελούν στόχους του miR-137 [102]. Το miR-137 συμμετέχει σε μονοπάτια που σχετίζονται με τη μνήμη και τη μάθηση τα οποία διαταράσσονται σε ασθενείς με σχιζοφρένεια [102]. Επιπρόσθετα νεκροτομικές μελέτες στον εγκέφαλο ασθενών με σχιζοφρένεια έδειξε μειωμένη έκφραση του miR-137 στο προμετωπιαίο φλοιό [102]. Όλα τα παραπάνω υποδεικνύουν το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει το miR-137 στη παθογένεση της νόσου [102]. Ο rs1625579 έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση σχιζοφρένειας και το T αλληλίο σχετίζεται με μικρότερα επίπεδα miR-137 στον εγκεφαλικό φλοιό [102]. Έτσι, υποψιαζόμαστε ότι η απορρύθμιση της έκφρασης του miR-137 και η επακόλουθη ανώμαλη έκφραση του στα γονίδια στόχους συμβάλλουν στις νευροαναπτυξιακές και στις νευρομορφολογικές διαταραχές που εμφανίζονται στη σχιζοφρένεια [103]. Σε μια μελέτη που έγινε στη Σκωτία ανάμεσα σε μάρτυρες και άτομα με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης της διαταραχής δηλαδή σε συγγενείς ασθενών βρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού με την εμφάνιση της σχιζοφρένειας [103]. Η μικρή αλλά σημαντική αυτή συσχέτιση βρέθηκε και σε μια μελέτη στον κινεζικό πληθυσμό [103].

Επίλογος

Οι πολυμορφισμοί που βρίσκονται σε πρόδρομα μόρια miRNA, σε θέσεις δέσμευσης miRNA και σε ένζυμα που συμμετέχουν στη βιογένεση των miRNA, πιθανότατα να έχουν ένα λειτουργικό ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και ενδεχομένως να μεταβάλλουν περαιτέρω την κυτταρική ομοιοστάση,

συμβάλλοντας έτσι στην ευαισθησία ενός ατόμου για διάφορες ασθένειες. Επίσης είναι πιθανό να μεταβάλουν τη βιολογία της κάθε νόσου και την απόκριση του ασθενούς στη θεραπεία. Κατανοώντας τον ρόλο των πολυμορφισμών των miRNAs και τη συμβολή τους σε διάφορες ασθένειες αντιλαμβανόμαστε ότι οι miRSNPs αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο για την φαρμακογενετική, την επιδημιολογία αλλά και την εξατομικευμένη θεραπεία ασθενειών [46]. Τα miRSNPs στο μέλλον μπορούν να χρησιμεύσουν σαν βιοδείκτες για διάγνωση ασθενειών σε πρώιμα στάδια και σαν ειδικούς γενετικούς τόπους που θα αποτελέσουν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις και θα επιμηκύνουν τη ζωή ασθενών. Η παραπάνω βιβλιογραφική αναφορά αναδεικνύει μερικά από τα πρώτα ευρήματα σε αυτόν τον τομέα της μελέτης και η εξέλιξη αυτού του τομέα μπορεί σύντομα να φέρει επανάσταση στον τρόπο οι κλινικοί γιατροί αναγνωρίζουν πολλές ασθένειες και τις αντιμετωπίζουν.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. K Felekis, E Tuvana, Ch Stefanou, and C Deltas microRNAs: a newly described class of encoded molecules that play a role in health and disease Hippokratia. 2010 Oct-Dec; 14(4): 236–240.
2. Bing Liu,* Jiuyong Li,* and Murray J. Cairns corresponding author* Identifying miRNAs, targets and functions Brief Bioinform. 2014 Jan; 15(1): 1–19.
3. Anna Stroynowska-Czerwinska, Agnieszka Fiszer, and Wlodzimierz J. Krzyzosiak corresponding author. The panorama of miRNA-mediated mechanisms in mammalian cells. Cell Mol Life Sci. 2014; 71(12): 2253–2270.
4. Richard W. Carthew^{1,*} and Erik J. Sontheimer¹, Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs Cell. 2009 Feb 20; 136(4): 642–655.
5. Stephanie Cerman and Julie Saugstad^{b,*} MicroRNAs: Meta-controllers of gene expression in synaptic activity emerge as genetic and diagnostic markers of human disease Pharmacol Ther. 2011 Apr; 130(1): 26–37.
6. Chen K¹, Song F, Calin GA, Wei Q, Hao X, Zhang W. Polymorphisms in microRNA targets: a gold mine for molecular epidemiology. Carcinogenesis. 2008 Jul;29(7):1306-11. doi: 10.1093/carcin/bgn116. Epub 2008 May 13
7. Aaron J. Schetter, Hirokazu Okayama, and Curtis C. Harris The Role of microRNAs in Colorectal Cancer Cancer J. 2012 May; 18(3): 244–252
8. Valentina Libri, Pascal Miesen, Ronald P. van Rij, corresponding author and Amy H. Buck corresponding author Regulation of microRNA biogenesis and turnover by animals and their viruses Cell Mol Life Sci. 2013; 70(19): 3525–3544.
9. Gianpiero Di Leva,¹ Michela Garofalo,^{1,#} and Carlo M. Croce¹, microRNAs in cancer Annu Rev Pathol. 2014; 9: 287–314.
10. Jinju Han,¹ Yoontae Lee,¹ Kyu-Hyun Yeom, Young-Kook Kim, Hua Jin, and V. Narry Kim² The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing Genes Dev. 2004 Dec 15; 18(24): 3016–3027
11. Salzman DW¹, Weidhaas JB SNPing cancer in the bud: microRNA and microRNA-target site polymorphisms as diagnostic and prognostic biomarkers in cancer.. Pharmacol Ther. 2013 Jan;137(1):55-63. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.016. Epub 2012 Sep 3.
12. Timothy M. Johanson,^{1,2,3} Andrew M. Lew,^{1,2} and Mark M. W. Chong^{3,4} MicroRNA-independent roles of the RNase III enzymes Drosha and Dicer Open Biol. 2013 Oct; 3(10): 130144.
13. Wei Xu,¹ Jijun Xu,² Shifeng Liu,¹ Bo Chen,¹ Xueli Wang,¹ Yan Li,¹ Yun Qian,¹ Weihong Zhao,¹ and Jianqing Wu^{1,*} Effects of Common Polymorphisms rs11614913 in miR-196a2 and rs2910164 in miR-146a on Cancer Susceptibility: A Meta-Analysis PLoS One. 2011; 6(5): e20471
14. Prasun J Mishra corresponding author¹ and Joseph R Bertino² MicroRNA polymorphisms: the future of pharmacogenomics, molecular epidemiology and individualized medicine Pharmacogenomics. 2009 Mar; 10(3): 399–416.
15. Landi D¹, Gemignani F, Landi S. Role of variations within microRNA-binding sites in cancer. Mutagenesis. 2012 Mar;27(2):205-10. doi: 10.1093/mutage/ger055.

16. Terry S. Elton,^{1, 2, 3*} Sarah E. Sansom,¹ and Mickey M. Martin¹ Cardiovascular Disease, Single Nucleotide Polymorphisms; and the Renin Angiotensin System: Is There a MicroRNA Connection? *Int J Hypertens*. 2010; 2010: 281692.
17. Feng-Ju Song^{1,2} and Ke-Xin Chen^{1,2} Single-nucleotide polymorphisms among microRNA: big effects on cancer *Chin J Cancer*. 2011 Jun; 30(6): 381–391.
18. Rodolfo Iuliano, ^{1, 2, *} Marco Flavio Michele Vismara, ^{2, 3} Vincenzo Dattilo, ⁴ Francesco Trapasso, ^{1, 2} Francesco Baudi, ^{1, 5} and Nicola Perrotti ^{2, 4, *} The Role of MicroRNAs in Cancer Susceptibility *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 591931.
19. Nicoloso MS, Sun H, Spizzo R, Kim H, Wickramasinghe P, et al. (2010) Single-nucleotide polymorphisms inside microRNA target sites influence tumor susceptibility. *Cancer Res* 70: 2789–2798
20. A. Wojcicka, A. de la Chapelle, and K. Jazdzewski corresponding author MicroRNA-related sequence variations in human cancers *Hum Genet*. 2014; 133(4): 463–469
21. Bríd M. Ryan,^{*} Ana I. Robles,[‡] and Curtis C. Harris[‡] Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research *Nat Rev Cancer*. 2010 Jun; 10(6): 389–402.
22. Lina Zhang,^{a,b,c} Yuexin Liu,^c Fengju Song,^{a,b} Hong Zheng,^{a,b} Limei Hu,^c Hong Lu,^{b,d} Peifang Liu,^{b,d} Xishan Hao,^{a,b,d} Wei Zhang,^{c,1} and Kexin Chena,^b Functional SNP in the microRNA-367 binding site in the 3'UTR of the calcium channel ryanodine receptor gene 3 (RYR3) affects breast cancer risk and calcification *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Aug 16; 108(33): 13653–13658.
23. Pelletier C1, Weidhaas JB. MicroRNA binding site polymorphisms as biomarkers of cancer risk. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010 Sep;10(6):817-29. doi: 10.1586/erm.10.59
24. Krystian Jazdzewski,^{*} Elizabeth L. Murray,[†] Kaarle Franssila,[‡] Barbara Jarzab,[§] Daniel R. Schoenberg,[†] and Albert de la Chapelle Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 May 20; 105(20): 7269–7274
25. Aaron E. Hoffman,¹ Tongzhang Zheng,¹ Chunhui Yi,¹ Derek Leaderer,¹ Joanne Weidhaas,² Frank Slack,³ Yawei Zhang,¹ Trupti Paranjape,² and Yong Zhu¹ MicroRNA miR-196a-2 and breast cancer a genetic and epigenetic association study and functional analysis *Cancer Res*. 2009 Jul 15; 69(14): 5970–5977.
26. Wang G, van der Walt JM, Mayhew G, et al. Variation in the miRNA-433 binding site of FGF20 confers risk for Parkinson disease by overexpression of α -synuclein. *Am J Hum Genet*. 2008;82:283–289.
27. Carlo M. Croce, M.D. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer *Nat Rev Genet*. 2009 Oct; 10(10): 704–714
28. Agnieszka Dzikiewicz-Krawczyk, corresponding author¹ Anna Macieja,² Ewa Mały,³ Danuta Januszkiewicz-Lewandowska,^{1,3,4} Maria Mosor,¹ Marta Fichna,^{1,5} Ewa Strauss,¹ and Jerzy Nowak¹ Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding Published online 2014 Jun 2. doi: 10.1186/1756-8722-7-43
29. Chao Han, ¹ Zujiang Yu, ¹ Zhenfeng Duan, ² and Quancheng Kan ^{1, *} Role of MicroRNA-1 in Human Cancer and Its Therapeutic Potentials *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 428371.

30. Banzhaf-Strathmann J1, Edbauer D. Good guy or bad guy: the opposing roles of microRNA 125b in cancer. *Cell Commun Signal*. 2014 Apr 28;12:30. doi: 10.1186/1478-811X-12-30
31. Jing Guo, Mingjuan Jin, Mingwu Zhang, and Kun Chen* A Genetic Variant in miR-196a2 Increased Digestive System Cancer Risks: A Meta-Analysis of 15 Case-Control Studies Published online 2012 Jan 24. doi: 10.1371/journal.pone.0030585
32. Sofia Khan,¹ Dario Greco,^{1,2} Kyriaki Michailidou,³ Roger L. Milne,^{4,5} Taru A. Muranen,¹ Tuomas Heikkinen,¹ Kirsimari Aaltonen,^{1,6,7} Joe Dennis,³ Manjeet K. Bolla,³ Jianjun Liu,⁸ Per Hall,⁹ Astrid Irwanto,⁸ Keith Humphreys,⁹ Jingmei Li,⁸ Kamila Czene,⁹ Jenny Chang-Claude,¹⁰ Rebecca Hein,^{10,11} Anja Rudolph,¹⁰ Petra Seibold,¹⁰ Dieter Flesch-Janys,¹² Olivia Fletcher,¹³ Julian Peto,¹⁴ Isabel dos Santos Silva,¹⁴ Nichola Johnson,¹³ Lorna Gibson,¹⁴ Zoe Aitken,¹⁴ John L. Hopper,¹⁵ Helen Tsimiklis,¹⁶ Minh Bui,¹⁵ Enes Makalic,¹⁵ Daniel F. Schmidt,¹⁵ Melissa C. Southey,¹⁶ Carmel Apicella,¹⁵ Jennifer Stone,¹⁵ Quinten Waisfisz,¹⁷ Hanne Meijers-Heijboer,¹⁷ Muriel A. Adank,¹⁷ Rob B. van der Luit,¹⁸ Alfons Meindl,¹⁹ Rita K. Schmutzler,^{20,21,22,23} Bertram Müller-Myhsok,²⁴ Peter Lichtner,²⁵ Clare Turnbull,²⁶ Nazneen Rahman,²⁶ Stephen J. Chanock,²⁷ David J. Hunter,^{28,29} Angela Cox,³⁰ Simon S. Cross,³¹ Malcolm W. R. Reed,³⁰ Marjanka K. Schmidt,³² Annegien Broeks,³² Laura J. V. a. n't. Veer,³² Frans B. Hogervorst,³² Peter A. Fasching,^{33,34} Michael G. Schrauder,³³ Arif B. Ekici,³⁵ Matthias W. Beckmann,³³ Stig E. Bojesen,^{36,37} Børge G. Nordestgaard,^{36,37} Sune F. Nielsen,^{36,37} Henrik Flyger,³⁸ Javier Benitez,^{39,40} Pilar M. Zamora,⁴¹ Jose I. A. Perez,⁴² Christopher A. Haiman,⁴³ Brian E. Henderson,⁴³ Fredrick Schumacher,⁴³ Loic Le Marchand,⁴⁴ Paul D. P. Pharoah,^{3,45} Alison M. Dunning,⁴⁵ Mitul Shah,⁴⁵ Robert Luben,⁴⁶ Judith Brown,³ Fergus J. Couch,⁴⁷ Xianshu Wang,⁴⁷ Celine Vachon,⁴⁸ Janet E. Olson,⁴⁸ Diether Lambrechts,^{49,50} Matthieu Moisse,^{49,50} Robert Paridaens,⁵¹ Marie-Rose Christiaens,⁵¹ Pascal Guénel,^{52,53} Thérèse Truong,^{52,53} Pierre Laurent-Puig,⁵⁴ Claire Mulot,⁵⁴ Frederick Marme,^{55,56} Barbara Burwinkel,^{55,57} Andreas Schneeweiss,^{55,56} Christof Sohn,⁵⁵ Elinor J. Sawyer,⁵⁸ Ian Tomlinson,⁵⁹ Michael J. Kerin,⁶⁰ Nicola Miller,⁶⁰ Irene L. Andrulis,^{61,62} Julia A. Knight,^{63,64} Sandrine Tchatchou,⁶¹ Anna Marie Mulligan,^{65,66} Thilo Dörk,⁶⁷ Natalia V. Bogdanova,⁶⁸ Natalia N. Antonenkova,⁶⁹ Hoda Anton-Culver,⁷⁰ Hatef Darabi,⁹ Mikael Eriksson,⁹ Montserrat Garcia-Closas,^{71,72} Jonine Figueroa,²⁷ Jolanta Lissowska,⁷³ Louise Brinton,²⁷ Peter Devilee,⁷⁴ Robert A. E. M. Tollenaar,⁷⁵ Caroline Seynaeve,⁷⁶ Christi J. van Asperen,⁷⁷ Vessela N. Kristensen,^{78,79,80} kConFab Investigators,^{81,¶} Australian Ovarian Cancer Study Group,^{81,82,¶} Susan Slager,⁴⁸ Amanda E. Toland,⁸³ Christine B. Ambrosone,⁸⁴ Drakoulis Yannoukakos,⁸⁵ Annika Lindblom,⁸⁶ Sara Margolin,⁸⁷ Paolo Radice,⁸⁸ Paolo Peterlongo,⁸⁹ Monica Barile,⁹⁰ Paolo Mariani,^{89,91} Maartje J. Hoening,⁹² John W. M. Martens,⁹² J. Margriet Collée,⁹³ Agnes Jager,⁹² Anna Jakubowska,⁹⁴ Jan Lubinski,⁹⁴ Katarzyna Jaworska-Bieniek,^{94,95} Katarzyna Durda,⁹⁴ Graham G. MicroRNA Related Polymorphisms and Breast Cancer Risk *PLoS One*. 2014; 9(11): e109973
33. Wacholder S, Struewing JP, Hartge P, Greene MH, Tucker MA. Breast cancer risks for BRCA1/2 carriers. *Science*. 2004;306(5705):2187–2191. author reply 2187–2191.

34. Shen J1, Ambrosone CB, DiCioccio RA, Odunsi K, Lele SB, Zhao H. Carcinogenesis. 2008 Oct;29(10):1963-6. doi: 10.1093/carcin/bgn172. Epub 2008 Jul
35. Hu Z, Liang J, Wang Z, et al. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. Human Mutation. 2009;30(1):79–84.
36. Brendle A, Lei H, Brandt A, et al. Polymorphisms in predicted microRNA-binding sites in integrin genes and breast cancer: ITGB4 as prognostic marker. Carcinogenesis. 2008;29(7):1394–1399
37. Tchatchou S1, Jung A, Hemminki K, Sutter C, Wappenschmidt B, Bugert P, Weber BH, Niederacher D, Arnold N, Varon-Mateeva R, Ditsch N, Meindl A, Schmutzler RK, Bartram CR, Burwinkel B. A variant affecting a putative miRNA target site in estrogen receptor (ESR) 1 is associated with breast cancer risk in premenopausal women. Carcinogenesis. 2009 Jan;30(1):59-64. doi: 10.1093/carcin/bgn253. Epub 2008 Nov 20.
38. Hu Z1, Ma H, Chen F, Wei Q, Shen H. XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005 Jul;14(7):1810-8.
39. Milena S. Nicoloso,* || Hao Sun,\$† || Riccardo Spizzo,* Hyunsoo Kim,† Priyankara Wickramasinghe,† Masayoshi Shimizu,* Sylwia E. Wojcik,‡ Jana Ferdin,*# Tanja Kunej,# Lianchun Xiao,## Siranoush Manoukian,\$ Giorgio Secreto,¶ Fernando Ravagnani,** Xuemei Wang,## Paolo Radice,††§§ Carlo M. Croce,‡ Ramana V. Davuluri,††† and George A. Calin*†† SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS INSIDE microRNA TARGET SITES INFLUENCE TUMOR SUSCEPTIBILITY Cancer Res. 2010 Apr 1; 70(7): 2789–2798
40. Song F1, Zheng H, Liu B, Wei S, Dai H, Zhang L, Calin GA, Hao X, Wei Q, Zhang W, Chen K. An miR-502-binding site single-nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the SET8 gene is associated with early age of breast cancer onset. Clin Cancer Res. 2009 Oct 1;15(19):6292-300. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0826. Epub 2009 Sep 29
41. Yue Jiang1–3†, Zhenzhen Qin2,†, Zhibin Hu1–3, Xiaoxiang Guan4, Yanru Wang4, Yisha He2, Jialei Xue5, Xiao'an Liu5, Jiaping Chen2,3, Juncheng Dai1–3, Guangfu Jin1–3, Hongxia Ma1–3, Shui Wang5 and Hongbing Shen1–3,* Genetic variation in a hsa-let-7 binding site in RAD52 is associated with breast cancer susceptibility Oxford JournalsMedicine & Health & Science & Mathematics Carcinogenesis Volume 34, Issue 3Pp. 689-693
42. Carina Preskill and Joanne B. Weidhaas SNPs in microRNA Binding Sites as Prognostic and Predictive Cancer Biomarkers Crit Rev Oncog. Author manuscript; available in PMC 2014 May 21
43. Wynendaele J1, Böhnke A, Leucci E, Nielsen SJ, Lambertz I, Hammer S, Sbrzesny N, Kubitza D, Wolf A, Gradhand E, Balschun K, Braicu I, Sehouli J, Darb-Esfahani S, Denkert C, Thomssen C, Hauptmann S, Lund A, Marine JC, Bartel F. An illegitimate microRNA target site within the 3' UTR of MDM4 affects ovarian cancer progression and chemosensitivity. Cancer Res. 2010 Dec 1;70(23):9641-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0527. Epub 2010 Nov 16

44. Jie Lin, Yohei Horikawa, Pheroze Tamboli,¹ Jessica Clague, Christopher G. Wood,² and Xifeng Wu* Genetic variations in microRNA-related genes are associated with survival and recurrence in patients with renal cell carcinoma *Carcinogenesis*. 2010 Oct; 31(10): 1805–1812
45. Martinez I, Gardiner AS, Board KF, Monzon FA, Edwards RP, Khan SA. Human papillomavirus type 16 reduces the expression of microRNA-218 in cervical carcinoma cells. *Oncogene*. 2008;27(18):2575–2582.
46. Ting-Yan Shi,^{1,5} Xiao-Jun Chen,^{2,5} Mei-Ling Zhu,^{1,5} Meng-Yun Wang,^{1,5} Jing He,^{1,5} Ke-Da Yu,^{3,5} Zhi-Ming Shao,^{1,3,5} Meng-Hong Sun,^{4,5} Xiao-Yan Zhou,^{4,5} Xi Cheng,^{2,5} Xiaohua Wu,corresponding author^{2,5} and Qingyi Wei,corresponding author^{1,6} A pri-miR-218 variant and risk of cervical carcinoma in Chinese women *BMC Cancer*. 2013; 13: 19
47. Chen Huang,* Zhaogeng Cai,* Mingzhu Huang,* Chaoming Mao, Qifa Zhang, Yi Lin, Xiaomei Zhang, Bi Tang, Yuqing Chen, Xiaojing Wang, Zhongqing Qian, Lei Ye, Yongde Peng,corresponding author and Huanbai Xu,corresponding author miR-219–5p Modulates Cell Growth of Papillary Thyroid Carcinoma by Targeting Estrogen Receptor α *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Feb; 100(2): E204–E213
48. Zi-ming Yuan, Zhi-li Yang, and Qi Zheng Deregulation of microRNA expression in thyroid tumors* *J Zhejiang Univ Sci B*. 2014 Mar; 15(3): 212–224.
49. Yahya Khazaie, Pharm.D¹ and Mohammad Hossein Nasr Esfahani, Ph.D^{2,3,*} MicroRNA and Male Infertility: A Potential for Diagnosis *Int J Fertil Steril*. 2014 Jul-Sep; 8(2): 113–118
50. Y Dong,^{1,2} W K K Wu,¹ C W Wu,¹ J J Y Sung,¹ J Yu,^{1,*} and S S M Ng^{1,2,*} MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: a clinical perspective *Br J Cancer*. 2011 Mar 15; 104(6): 893–898.
51. Peiliang Geng,[¶] Xiaoxin Zhao,[¶] Lisha Xiang, Yunmei Liao, Ning Wang, Juanjuan Ou, Ganfeng Xie, Chen Liu, Jianjun Li, Hongtao Li, Rui Zeng, and Houjie Liang* Distinct Role of CD86 Polymorphisms (rs1129055, rs17281995) in Risk of Cancer: Evidence from a Meta-Analysis *PLoS One*. 2014; 9(11): e109131
52. Pedram Azimzadeh, Sara Romani, Hanieh Mirtalebi, Seyed Reza Fatemi, Shabnam Kazemian, Mahsa Khanyaghma, and Seyed Reza Mohebbi,corresponding author Association of co-stimulatory human B-lymphocyte antigen B7-2 (CD86) gene polymorphism with colorectal cancer risk *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2013 Spring; 6(2): 86–91
53. Debora Landi^{1,2}, Federica Gemignani¹, Alessio Naccarati³, Barbara Pardini³, Pavel Vodicka³, Ludmila Vodickova^{3,4}, Jan Novotny^{5,6}, Asta Försti^{2,7}, Kari Hemminki^{2,7}, Federico Canzian² and Stefano Landi¹, Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer *Oxford Journals Medicine & Health & Science & Mathematics Carcinogenesis Volume 29, Issue 3Pp. 579–584*
54. Lin M, Gu J, Eng C, et al. Genetic polymorphisms in MicroRNA-related genes as predictors of clinical outcomes in colorectal adenocarcinoma patients. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(14):3982–3991
55. L. Stenholm^{1,†}, J. Stoehlmacher-Williams^{2,†}, S. E. Al-Batran^{3,†}, N. Heussen⁴, S. Akin¹, C. Pauligk³, S. Lehmann², T. Senff¹, R. D. Hofheinz⁵, G. Ehninger², M. Kramer² and E. Goekkurt^{1,6,*} Prognostic role of microRNA polymorphisms in

advanced gastric cancer: a translational study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO) Oxford Journals Medicine & Health Annals of Oncology Volume 24, Issue 10Pp. 2581-2588.

56. Yu Xu,1,4,* Hongxia Ma,1 Hongping Yu,1 Zhensheng Liu,1 Li-E Wang,1 Dongfeng Tan,2 Ramya Muddasani,2 Victoria Lu,2 Jaffer A. Ajani,3 Yanong Wang,4 and Qingyi Wei1,* The miR-184 Binding-Site rs8126 T>C Polymorphism in TNFAIP2 Is Associated with Risk of Gastric Cancer PLoS One. 2013; 8(5): e64973
57. Qian Xu,1 Qiguan Dong,1 Caiyun He,1 Wenjing Liu,1 Liping Sun,1 Jingwei Liu,1 Chengzhong Xing,1 Xiaohang Li,2 Bengang Wang,3 and Yuan Yuan1,* A New Polymorphism Biomarker rs629367 Associated with Increased Risk and Poor Survival of Gastric Cancer in Chinese by Up-Regulated miRNA-let-7a Expression PLoS One. 2014; 9(4): e95249
58. Xu J, Yin Z, Gao W, et al. Genetic variation in a microRNA-502 binding site in SET8 gene confers clinical outcome of non-small cell lung cancer in a Chinese population. PLoS One. 2013;8(10):e77024
59. Nelson HH, Christensen BC, Plaza SL, Wiencke JK, Marsit CJ, Kelsey KT. KRAS mutation, KRAS-LCS6 polymorphism, and non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2009;69(1):51–53
60. Guz M1, Rivero-Müller A2, Okoń E1, Stenzel-Bembenek A1, Polberg K3, Słomka M4, Stepulak A5. MicroRNAs-role in lung cancer. Dis Markers. 2014;2014:218169. doi: 10.1155/2014/218169. Epub 2014 Mar 13
61. Hu Z1, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, Zeng Y, Miao R, Jin G, Ma H, Chen Y, Shen H. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. J Clin Invest. 2008 Jul;118(7):2600-8. doi: 10.1172/JCI34934
62. Cipollini M1, Landi S1, Gemignani F1 MicroRNA binding site polymorphisms as biomarkers in cancer management and research. Pharmgenomics Pers Med. 2014 Jul 23;7:173-91. doi: 10.2147/PGPM.S61693. eCollection 2014
63. Cheng M, Yang L, Yang R, et al. A microRNA-135a/b binding polymorphism in CD133 confers decreased risk and favorable prognosis of lung cancer in Chinese by reducing CD133 expression. Carcinogenesis. 2013;34(10):2292–2299
64. Lena J. Chin,1 Elena Ratner,2 Shuguang Leng,3 Rihong Zhai,4 Sunitha Nallur,2 Imran Babar,1 Roman-Ulrich Muller,2 Eva Straka,5 Li Su,4 Elizabeth A. Burki,3 Richard E. Crowell,6 Rajeshvari Patel,2 Trupti Kulkarni,2 Robert Homer,7 Daniel Zelterman,8 Kenneth K. Kidd,5 Yong Zhu,8 David C. Christiani,4,9 Steven A. Belinsky,3 Frank J. Slack,1,10 and Joanne B. Weidhaas2,10 A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3'UTR Increases Non-Small Cell Lung Cancer Risk Cancer Res. Author manuscript; available in PMC 2009 Oct 15
65. Xiong F1, Wu C, Chang J, Yu D, Xu B, Yuan P, Zhai K, Xu J, Tan W, Lin D. Genetic variation in an miRNA-1827 binding site in MYCL1 alters susceptibility to small-cell lung cancer. Cancer Res. 2011 Aug 1;71(15):5175-81. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4407. Epub 2011 Jun 15
66. Jiali Xu,#1 Zhiqiang Yin,#2 Wen Gao,1 Lingxiang Liu,1 Yongmei Yin,1 Ping Liu,1 and Yongqian Shu1,* Genetic Variation in a MicroRNA-502 Binding Site in SET8 Gene Confers Clinical Outcome of Non-Small Cell Lung Cancer in a Chinese Population PLoS One. 2013; 8(10): e77024

67. Teng Xu¹, Ying Zhu¹, Qing-Kun Wei¹, Yunfei Yuan^{2,3}, Fan Zhou¹, Yi-Yuan Ge¹, Jian-Rong Yang¹, Hang Su¹ and Shi-Mei Zhuang^{1,2,*} A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma Oxford Journals Medicine & Health & Science & Mathematics Carcinogenesis Volume 29, Issue 11 Pp. 2126-2131
68. Jiang J, Gusev Y, Aderca I, et al. Association of MicroRNA expression in hepatocellular carcinomas with hepatitis infection, cirrhosis, and patient survival. Clin. Cancer Res. 2008;14(2):419–427
69. Yuzhen Gao^{1,2,3,†}, Yan He^{1,2,†}, Jun Ding^{1,2}, Kang Wu^{1,2}, Bo Hu^{1,2}, Yang Liu^{1,2}, Yan Wu^{1,2}, Bingnan Guo^{1,2}, Yueping Shen⁴, Debora Landi⁵, Stefano Landi⁵, Yifeng Zhou^{1,2} and Haiyan Liu^{1,2,*} An insertion/deletion polymorphism at miRNA-122-binding site in the interleukin-1 α 3' untranslated region confers risk for hepatocellular carcinoma Oxford Journals Medicine & Health & Science & Mathematics Carcinogenesis Volume 30, Issue 12 Pp. 2064-2069
70. Jiaming Liu^{1,*}, Jinnan Liu^{1,*}, Mingtian Wei¹, Yazhou He¹, Banghua Liao¹, Ga Liao², Hong Li, corresponding author¹ and Jin Huang, corresponding author¹ Genetic Variants in the MicroRNA Machinery Gene GEMIN4 Are Associated with Risk of Prostate Cancer: A Case-control Study of the Chinese Han Population DNA Cell Biol. 2012 Jul; 31(7): 1296–1302
71. Peiliang Geng,[¶] Xiaoxin Zhao,[¶] Lisha Xiang, Yunmei Liao, Ning Wang, Juanjuan Ou, Ganfeng Xie, Chen Liu, Jianjun Li, Hongtao Li, Rui Zeng, and Houjie Liang* Distinct Role of CD86 Polymorphisms (rs1129055, rs17281995) in Risk of Cancer: Evidence from a Meta-Analysis PLoS One. 2014; 9(11): e109131
72. Luo J¹, Cai Q, Wang W, Huang H, Zeng H, He W, Deng W, Yu H, Chan E, Ng CF, Huang J, Lin T. A microRNA-7 binding site polymorphism in HOXB5 leads to differential gene expression in bladder cancer. PLoS One. 2012;7(6):e40127. doi: 10.1371/journal.pone.0040127. Epub 2012 Jun 29.
73. Idoia Martin-Guerrero, Angela Gutierrez-Camino, Elixabet Lopez-Lopez, Nerea Bilbao-Aldaiturriaga, Maria Pombar-Gomez, Maite Ardanaz, Africa Garcia-Orad Genetic Variants in MiRNA Processing Genes and Pre-MiRNAs Are Associated with the Risk of Chronic Lymphocytic Leukemia Published: March 20, 2015
74. Xi Li,^{#1} Xiaobo Tian,^{#1} Bo Zhang,¹ Yanqi Zhang,² and Jieping Chen^{1,*} Variation in Dicer Gene Is Associated with Increased Survival in T-Cell Lymphoma PLoS One. 2012; 7(12): e51640
75. Xi Li, Xiaobo Tian, Bo Zhang, and Jieping Chen, corresponding author Polymorphisms in MicroRNA-Related Genes Are Associated With Survival of Patients With T-Cell Lymphoma Oncologist. 2014 Mar; 19(3): 243–249
76. Alfons Navarro,^{1,*} Carmen Muñoz,¹ Anna Gaya,² Marina Díaz-Beyá,^{2,3} Bernat Gel,⁴ Rut Tejero,¹ Tania Díaz,¹ Antonio Martinez,⁵ and Mariano Monzó¹ MiR-SNPs as Markers of Toxicity and Clinical Outcome in Hodgkin Lymphoma Patients PLoS One. 2013; 8(5): e64716
77. Agnieszka Dzikiewicz-Krawczyk MicroRNA-binding site polymorphisms in hematological malignancies Hematol Oncol. 2014; 7: 83

78. Ewelina Nalejska, Ewa Mączyńska, and Marzena Anna Lewandowski Prognostic and Predictive Biomarkers: Tools in Personalized Oncology *Mol Diagn Ther.* 2014; 18(3): 273–284
79. Aaron J. Schetter and Curtis C. Harris, M.D., Chief Alterations of microRNAs contribute to colon carcinogenesis *Semin Oncol.* 2011 Dec; 38(6): 734–742
80. Amit Kishore, 1, * Jana Borucka, 1 Jana Petrakova, 1, 2 and Martin Petrek 1 Novel Insights into miRNA in Lung and Heart Inflammatory Diseases *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 259131
81. Ανθή Χατζηκυριακίδου/Παρασκευή Β.Βούλγαρη/Αλέξανδρος Δρόσος miRNAs και συνοδοί πολυμορφισμοί στην προδιάθεση ανάπτυξης ρευματοειδούς αρθρίτιδας
82. Lili Yang,#1 Jianjian Wang,#1 Xuesong Sun,#1 Yuze Cao,1 Shangwei Ning,2 Huixue Zhang,1 Lixia Chen,1 Ronghong Li,2 Qinghua Tian,1 Lihua Wang,1,* Weizhi Wang,1,* and Xia Li2,* Identifying a Polymorphic ‘Switch’ That Influences miRNAs’ Regulation of a Myasthenia Gravis Risk Pathway *PLoS One.* 2014; 9(8): e104827
83. Xiaobing Luo,#1,2 Wanling Yang,#3 Dong-Qing Ye,4 Huijuan Cui,1,2 Yan Zhang,3 Nattiya Hirankarn,5 Xiaoxia Qian,1 Yuanjia Tang,1 Yu Lung Lau,3 Niek de Vries,6 Paul Peter Tak,6 Betty P. Tsao,7 and Nan Shen1,* A Functional Variant in MicroRNA-146a Promoter Modulates Its Expression and Confers Disease Risk for Systemic Lupus Erythematosus *PLoS Genet.* 2011 Jun; 7(6): e1002128
84. Edberg,4 Robert P. Kimberly,4 Diane L. Kamen,5 Gary S. Gilkeson,5 Chaim O. Jacob,6 R. Hal Scofield,7,8,9 Carl D. Langeveld,10 Jennifer A. Kelly,7 Rosalind Ramsey-Goldman,11 Michelle A. Petri,12 John D. Reveille,13 Luis M. Vilá,14 Graciela S. Alarcón,4 Timothy J. Vyse,15 Bernardo A. Pons-Estel,16 on behalf of the Argentine Collaborative Group,¶ Barry I. Freedman,17 Patrick M. Gaffney,7 Kathy Moser Sivils,7 Judith A. James,7,8 Peter K. Gregersen,18 Juan-Manuel Anaya,19 Timothy B. Niewold,20 Joan T. Merrill,21 Lindsey A. Criswell,22 Anne M. Stevens,23,24 Susan A. Boackle,25 Rita M. Cantor,26 Weiling Chen,1 Jeniffer M. Grossman,1 Bevra H. Hahn,1 John B. Harley,2,3 Marta E. Alarcón-Riquelme,7,27 on behalf of the BIOLUPUS and GENLES networks,¶ Elizabeth E. Brown,4,28 and Betty P. Tsao1,* MicroRNA-3148 Modulates Allelic Expression of Toll-Like Receptor 7 Variant Associated with Systemic Lupus Erythematosus *PLoS Genet.* 2013 Feb; 9(2): e1003336.
85. Hikami K1, Kawasaki A, Ito I, Koga M, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Tsutsumi A, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Arinami T, Sumida T, Tsuchiya N. Association of a functional polymorphism in the 3'-untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011 Mar;63(3):755-63. doi: 10.1002/art.30188
86. Zhou Q1, Hou S, Liang L, Li X, Tan X, Wei L, Lei B, Kijlstra A, Yang P. MicroRNA-146a and Ets-1 gene polymorphisms in ocular Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2014 Jan;73(1):170-6. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201627. Epub 2012 Dec 25
87. Yiping Mao, Ramkumar Mohan, Shungang Zhang, and Xiaoqing Tangcorresponding author MicroRNAs as Pharmacological Targets in Diabetes *Pharmacol Res.* 2013 Sep; 75: 37–47
88. Tong-Tong Wang1, Yong-Jie Chen2, Lu-Lu Sun1, Si-Jia Zhang1, Zhong-Yu Zhou1, Hong Qiao1 Affection of Single-Nucleotide Polymorphisms in miR-27a, miR-124a, and miR-

- 146a on Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han People PLoS One 2013;8:e73272
89. Wang TT, Chen YJ, Sun LL, Zhang SJ, Zhou ZY, Qiao H1 Affection of Single-Nucleotide Polymorphisms in miR-27a, miR-124a, and miR-146a on Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han People. *Chin Med J (Engl)*. 2015 Feb 20;128(4):533-9. doi: 10.4103/0366-6999.151112
 90. Roggli E1, Britan A, Gattesco S, Lin-Marq N, Abderrahmani A, Meda P, Regazzi R. Involvement of microRNAs in the cytotoxic effects exerted by proinflammatory cytokines on pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2010 Apr;59(4):978-86. doi: 10.2337/db09-0881. Epub 2010 Jan 19
 91. Jonathan M. Locke, Hana Lango Allen, and Lorna W. Harriescorresponding author A rare SNP in pre-miR-34a is associated with increased levels of miR-34a in pancreatic beta cells *Acta Diabetol*. 2014; 51(2): 325–329
 92. Ran Wang,1,* Min Li,2,* Sijing Zhou,1,3 Daxiong Zeng,4 Xuan Xu,5 Rui Xu,1 and Gengyun Sun1 Effect of a single nucleotide polymorphism in miR-146a on COX-2 protein expression and lung function in smokers with chronic obstructive pulmonary disease *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2015; 10: 463–473
 93. Haas U1, Sczakiel G, Laufer SD. MicroRNA-mediated regulation of gene expression is affected by disease-associated SNPs within the 3'-UTR via altered RNA structure. *RNA Biol*. 2012 Jun;9(6):924-37. doi: 10.4161/rna.20497. Epub 2012 Jun 1
 94. Lina Wang,1,2 Hong Zhi,3 Yongjun Li,3 Genshan Ma,3 Xingzhou Ye,3 Xiaojin Yu,1 Tian Yang,1 Han Jin,3 Zuhong Lu,2 Pingmin Wei1 Polymorphism in miRNA-1 target site and circulating miRNA-1 phenotype are associated with the decreased risk and prognosis of coronary artery disease *Int J Clin Exp Pathol*. 2014; 7(8): 5093–5102
 95. Brest P1, Corcelle EA, Cesaro A, Chargui A, Belaïd A, Klionsky DJ, Vouret-Craviari V, Hebuterne X, Hofman P, Mograbi B. Autophagy and Crohn's disease: at the crossroads of infection, inflammation, immunity, and cancer *Curr Mol Med*. 2010 Jul;10(5):486-502
 96. Jie Lian,#1 Xiansheng Zhang,#2 Hui Tian,1 Ning Liang,1 Yong Wang,1 Chaozhao Liang,2 Xin Li,3 and Fei Suncorresponding author1 Altered microRNA expression in patients with non-obstructive azoospermia *Reprod Biol Endocrinol*. 2009; 7: 13
 97. Yong Wook Jung,1 Young Joo Jeon,2 HyungChul Rah,2 Ji Hyang Kim,3 Ji Eun Shin,3 Dong Hee Choi,3 Sun Hee Cha,3 and Nam Keun Kim2,* Genetic Variants in MicroRNA Machinery Genes Are Associate with Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss Risk PLoS One. 2014; 9(4): e95803
 98. Shu-Feng Lei,1,2,3 Christopher J Papasian,2 and Hong-Wen Deng1 Polymorphisms in Predicted miRNA Binding Sites and Osteoporosis *J Bone Miner Res*. 2011 Jan; 26(1): 72–78
 99. Lili Cui,#1 You Li,#1 Guoda Ma,1 Yan Wang,2 Yujie Cai,1 Shengyuan Liu,3 Yanyan Chen,1 Jia Li,4 Yuliu Xie,4 Gen Liu,1,5 Bin Zhao,1,5,* and Keshen Li1,* A Functional Polymorphism in the Promoter Region of MicroRNA-146a Is Associated with the Risk of Alzheimer Disease and the Rate of Cognitive Decline in Patients PLoS One. 2014; 9(2): e89019

100. Kevin P. Jensen,¹ Henry R. Kranzler,² Murray B. Stein,³ and Joel Gelernter^{1,4} The Effects of a MAP2K5 MicroRNA Target Site SNP on Risk for Anxiety and Depressive Disorders *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2014 Mar; 0(2): 175–183
101. Jensen KP, Covault J, Conner TS, Tennen H, Kranzler HR, Furneaux HM. A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. *Mol Psychiatry.* 2008 doi: 10.1038/mp.2008.15. (Epub ahead of print). A>G (rs13212041), role in aggressive behavior
102. Guoda Ma, ¹ Jingwen Yin, ² Jiawu Fu, ¹ Xudong Luo, ² Haihong Zhou, ¹ Hua Tao, ¹ Lili Cui, ¹ You Li, ¹ Zhixiong Lin, ² Bin Zhao, ¹ Zheng Li, ³ Juda Lin, ² ,* and Keshen Li ¹ ,* Association of a miRNA-137 Polymorphism with Schizophrenia in a Southern Chinese Han Population *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 751267.
103. Heather C Whalley,^{1,*} Martina Papmeyer,¹ Liana Romaniuk,¹ Emma Sprooten,¹ Eve C Johnstone,¹ Jeremy Hall,¹ Stephen M Lawrie,¹ Kathryn L Evans,² Hilary P Blumberg,³ Jessika E Sussmann,¹ and Andrew M McIntosh¹ Impact of a microRNA MIR137 Susceptibility Variant on Brain Function in People at High Genetic Risk of Schizophrenia or Bipolar Disorder *Neuropsychopharmacology.* 2012 Nov; 37(12): 2720–2729