

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« ΜΙΚΡΑ ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ ΜΟΡΙΑ RNAs ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ
ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ »

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΜΟΥΡΕΛΑΤΟΣ

ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ, *Επιβλέπουσα*

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ, *Μέλος*

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, *Μέλος*

ΛΑΡΙΣΑ, 2021



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS
« SMALL NON-CODING RNA MOLECULES (miRNAs) IN
CERVICAL CANCER »

KONSTANTINOS MOURELATOS

Obstetrician - Gynecologist

THREE-MEMBER COMMITTEE

TZEZOU ASPASIA, PROFESSOR OF MEDICAL GENETICS, **Supervisor**

DIMAS KONSTANTINOS, DEPUTY PROFESSOR OF PHARMACOLOGY, **Member**

PAPATHANASIOU IOANNA, ASSISTANT PROFESSOR OF MEDICAL BIOLOGY, **Member**

LARISSA, 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, προεξάρχοντων όλων των μελών ΔΕΠ του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Τσέζου Ασπασία για την απόλυτη εμπιστοσύνη την οποία μου έδειξε ως Διευθύντρια του μεταπτυχιακού προγράμματος, δίνοντας μου την ευκαιρία και τη δυνατότητα να εκπονήσω τη διπλωματική μου εργασία με θέμα «Μικρά μη κωδικά μόρια RNAs στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας». Με δέχτηκε εγκάρδια στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα το οποίο διευθύνει, προσφέροντας μου απλόχερα γνώσεις και εφόδια για την περαιτέρω επαγγελματική μου σταδιοδρομία. Οι διαρκείς παροτρύνσεις της και η υπομονή της αποτέλεσαν τον ακρογωνιαίο λίθο για την επιτυχή περάτωση της ερευνητικής μου προσπάθειας.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω και τους καθηγητές μου Δήμα Κωνσταντίνο και Παπαθανασίου Ιωάννα για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν στην τριμελή επιτροπή και να αφιερώσουν χρόνο και πνεύμα στην διπλωματική μου εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένεια μου και ιδιαίτερα την αδερφή μου Αικατερίνη, καθώς και τον αδερφικό μου φίλο Απόστολο Κολιό, για την αμέριστη συμπαράσταση τους καθ' όλη τη διάρκεια μιας ομολογουμένως πολύ δύσκολης χρονιάς από όλες τις απόψεις.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, παρά το γεγονός ότι είναι ένας καρκίνος που μπορεί δυνητικά να μπορεί να αποφευχθεί, αποτελεί ένα από τους συχνά εμφανιζόμενους γυναικολογικούς καρκίνους με πάνω από 500.000 περιπτώσεις να διαγιγνώσκονται παγκοσμίως κάθε χρόνο και 250.000 γυναίκες να χάνουν τη ζωή τους σε ετήσια βάση. Το 90% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας οφείλονται στη μόλυνση από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) για αυτό και η κατανόηση του τρόπου δράσης του αποτελεί αντικείμενο έντονης ερευνητικής μελέτης τόσο για τη πρόληψη και έγκαιρη διάγνωση όσο και για την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών. Σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει ότι η απορρύθμιση της έκφρασης μικρών μη κωδικών μορίων RNA (miRNAs) σχετίζονται με την εμφάνιση και την εξέλιξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Τα miRNAs είναι μικρά μη-κωδικά μόρια RNA, μήκους 18-25 νουκλεοτιδίων που έχει βρεθεί ότι ρυθμίζουν την έκφραση πολλών ανθρώπινων γονιδίων. Η λειτουργία τους έγκειται στην ρύθμιση της έκφρασης των mRNA στόχων τους και στον έλεγχο της αποδόμησής τους επηρεάζοντας πολλά μεταβολικά μονοπάτια που ελέγχουν βασικές κυτταρικές λειτουργίες όπως το κυτταρικό θάνατο, το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και η κυτταρική διαφοροποίηση. Απορρύθμιση αυτών των μεταβολικών οδών έχει βρεθεί ότι συμβάλλει στην εμφάνιση και στην εξέλιξη διαφόρων καρκίνων. Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η αποτύπωση των σύγχρονων ερευνητικών δεδομένων σχετικά με τη λειτουργία των miRNAs και το τρόπο επίδρασης της διαφοροποιημένης έκφρασής τους στην εμφάνιση και εξέλιξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επίσης γίνεται παρουσίαση των σύγχρονων δεδομένων σχετικά με τις δυνατότητες χρήσης των miRNAs ως διαγνωστικούς βιοδείκτες ή ως μέσα θεραπευτικής αντιμετώπισης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Λέξεις-κλειδιά : καρκίνος τραχήλου μήτρας, miRNAs, ιός ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), βιοδείκτες

ABSTRACT

Cervical cancer, despite being a potentially preventable cancer, is one of the most common gynecological cancers with over 500,000 cases being diagnosed worldwide each year and 250,000 women dying annually. 90% of cervical cancers are due to human papillomavirus (HPV) infection. Therefore, understanding how it works its role and function is a subject of intense research, for prevention and early diagnosis and for the development of treatment strategies. Recent studies have shown that deregulation of the expression of small non-coding RNA molecules (miRNAs) is associated with the onset and progression of cervical cancer. MiRNAs are small RNA molecules, 18-25 nucleotides long that have been found to regulate the expression of most human genes. Their function is to regulate the expression of mRNAs and to control their degradation by influencing many metabolic pathways that control key cellular functions such as cell death, control of cell proliferation and cell differentiation. Deregulation of these metabolic pathways has been found to contribute to the occurrence and progression of cancers. The purpose of this literature review is to capture current research data on the function of miRNAs and how their abnormal expression affects the onset and progression of cervical cancer. It also presents up-to-date data on the potential of miRNAs to be used as diagnostic biomarkers or as a treatment for cervical cancer.

Keywords: cervical cancer, miRNAs, human papillomavirus (HPV), biomarkers

Περιεχόμενα

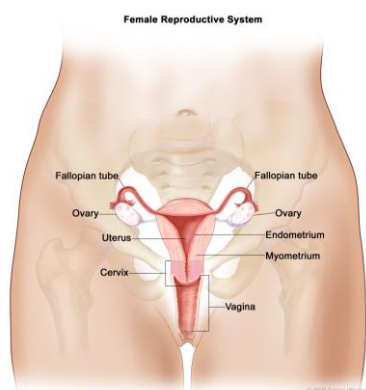
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
I.1. ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	1
I.2. Ο ΙΟΣ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ (HPV)	3
Διαχείριση και Θεραπεία	6
I.3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ	7
Διάγνωση	9
Πρόγνωση	9
I.4. ΜΙΚΡΑ ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ ΜΟΡΙΑ RNA (micro RNAs)	10
Ανακάλυψη του πρώτου miRNA	10
Βιογένεση των miRNAs	12
Μηχανισμοί ρύθμισης γονιδίου που ελέγχεται από miRNA	13
Κυκλοφορούντα miRNAs	13
II. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	15
III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	16
III.1. Ρόλος των miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας	16
Επίδραση των miRNAs στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και πολλαπλασιασμού στο καρκίνο τραχήλου μήτρας	19
Επίδραση των miRNAs στη μετανάστευση, μετάσταση και εισβολή των καρκινικών κυττάρων	21
III.2. Το σηματοδοτικό μονοπάτι Ras/Mek/ERK- αυξητικοί παράγοντες και KTM	27
Το miR-21 και το μονοπάτι σηματοδότησης RasA1	27
III.3. Πρωτεΐνες ενεχόμενες στην miRNA επεξεργασία κατά τη πρόοδο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας	29
III.4. Διάγνωση του καρκίνου της μήτρας μέσω χρήσης microRNAs	32
III.5. Μηχανισμός προαγωγής της μεθυσίωσης μέσω miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας	35
Το miR-29a αναστέλλει την έκφραση DNMT3A και DNMT3B στοχεύοντας απευθείας τα 3'-αμετάφραστα άκρα τους	36
IV. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ	38
IV.1 Γενικά	38

IV.2 MicroRNAs και αντίσταση στη χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας	40
Τα miRNAs που έχουν αυξημένη έκφραση στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καθορίζουν την αντίσταση στη σισπλατίνη.....	42
Η μειωμένη έκφραση κυτταρικών miRNAs οδηγεί σε ανθεκτικότητα σε σισπλατίνη στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας	44
miRNAs που ενισχύουν την ευαισθησία σε σισπλατίνη.....	46
Οι ρυθμιστικές θηλιές που σχηματίζουν τα miRNAs και lncRNAs καθορίζουν την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη	48
miRNAs που συμβάλλουν στην ακτινοαντίσταση στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας	49
miRNAs που σχετίζονται με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία.....	52
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	53
V.1 Μελλοντικές προοπτικές	54
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	55
Βιβλιογραφία	58

Ι.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ι.1. ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα είναι ένα περίπλοκο σύστημα το οποίο μπορεί να χωριστεί σε δύο μέρη, το εσωτερικό και το εξωτερικό τα οποία περιλαμβάνουν διακριτές δομές. Το εξωτερικό γεννητικό σύστημα περιλαμβάνει δομές που βρίσκονται έξω από τη πύελο και σχηματίζουν το αιδοίο, όπως τα μικρά και μεγάλα χείλη του αιδοίου, τη κλειτορίδα, το εφήβαιο, το πρόδομο του κολεού, τους βολβούς του προδόμου και τους μείζονες αδένες του προδόμου (Βαρθολίνειοι αδένες). Στη περιοχή του προδόμου εκβάλλει και η ουρηθραία θηλή. Τα εσωτερικά γεννητικά όργανα βρίσκονται εντός της λεκάνης και περιλαμβάνουν τις δύο ωοθήκες, τις δύο σάλπιγγες, τη μήτρα, το τράχηλο της μήτρας και τον κόλπο (Hoare BS, 2021).



Σχήμα 1: Ανατομία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Τα εσωτερικά όργανα είναι οι ωοθήκες, οι σάλπιγγες, η μήτρα, ο τράχηλος και ο κόλπος. Η μήτρα αποτελείται από παχιά μυϊκά τοιχώματα που ονομάζεται μυομήτριο ενώ εσωτερικά επενδύεται από το ενδομήτριο. Πηγή : (PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. [Figure, Anatomy of the female reproductive...]
Available from:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65951/figure/CDR0000044473__3/, (2002).

Η μήτρα είναι ένα ισχυρό μυώδες όργανο εντός του οποίου αναπτύσσεται το έμβρυο μετά τη γονιμοποίηση. Αποτελείται από το πυθμένα προς τα πάνω, το σώμα που είναι η κύρια κοιλότητα και το τράχηλο. Το κυρίως σώμα επικοινωνεί με το τράχηλο μέσω του ισθμού. Το εσωτερικό της μήτρας επαλείφεται από το ενδομήτριο, το οποίο σε

περίπτωση μη γονιμοποίησης , απορρίπτεται με τη μορφή έμμηνης ρύσεως. Βλάβη του ενδομητρίου ονομάζεται ενδομητρίτιδα και η χρόνια κατάσταση μπορεί να οδηγήσει σε υπογονιμότητα (Hoare BS, 2021).

Οι ωοθήκες βρίσκονται εντός της πυέλου εκατέρωθεν της μήτρας και αποτελούν τα κύρια όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας. Είναι οι γενετικοί αδένες της γυναίκας και ο ρόλος τους είναι η παραγωγή ωαρίων και ορμονών. Περιέχουν άωρα ωοθυλάκια, από τα οποία ένα κάθε μήνα μετατρέπεται σε ώριμο ωοθυλάκιο από το οποίο παράγεται το ωάριο. Επίσης οι ωοθήκες παράγουν δύο στεροειδείς ορμόνες, τα οιστρογόνα και τη προγεστερόνη υπό τον αυστηρό έλεγχο της θυλακιοτρόπου ορμόνης και της ωχρινοτρόπου ορμόνης της υπόφυσης. Οι στεροειδείς ορμόνες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο σε πολλές λειτουργίες του γυναικείου οργανισμού (Hoare BS, 2021).

Οι σάλπιγγες είναι σωλήνες που συνδέουν τις ωοθήκες με τη μήτρα, εντός των οποίων πραγματοποιείται η γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώαριο και η μετακίνηση του ζυγωτού προς τη μήτρα. Οι σάλπιγγες μπορούν συχνά να υποστούν βακτηριακή λοίμωξη που μπορεί να οδηγήσει σε συμφύσεις και τελικά σε υπογονιμότητα ή έκτοπη εγκυμοσύνη (Hoare BS, 2021).

Ο κόλπος είναι ένα ινώδης μυϊκός σωλήνας που έχει μήκος 6-8 εκατοστά και χρησιμεύει για τη συνουσία και την έξοδο του εμβρύου κατά το τοκετό. Ο τράχηλος της μήτρας εισέρχεται στο ανώτερο τμήμα του κόλπου σχηματίζοντας ένα κανάλι μεταξύ των δύο δομών. Το κανάλι αυτό διακρίνεται σε πρόσθιο προς τα εμπρός και οπίσθιο προς τα πίσω. Το οπίσθιο τμήμα είναι το συνηθέστερο σημείο στο οποίο εκδηλώνονται ρήξεις και κακοήθειες (Hoare BS, 2021).

1.2. Ο ΙΟΣ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ (HPV)

Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) είναι ένας γυμνός (δεν διαθέτει φάκελο) ιός με γενετικό υλικό δίκλωνο κυκλικό DNA της οικογένειας Papillomaviridae και είναι υπεύθυνος για πολλαπλές επιθηλιακές βλάβες καθώς και καρκίνους κυρίως σε δερματικές επιφάνειες και βλεννογόνους. Ο ιός προσβάλλει το επιθήλιο μέσω αλλοιώσεων του δέρματος ή του βλεννογόνου και μολύνει βασικά βλαστικά κύτταρα. Στη συνέχεια το γονιδίωμα του που περιέχει 9 γονίδια και φέρουν τις πληροφορίες για τον πολλαπλασιασμό του, μπορεί να μείνει για κάποιο διάστημα ανεξάρτητο πριν ενσωματωθεί στο DNA του ξενιστή. Εκεί ενσωματώνεται σε εύθραυστες θέσεις και κάνει το DNA επιρρεπές σε θραύσεις. Μπορεί να προκαλέσει δερματικά κονδυλώματα τα οποία ανάλογα με τον υπότυπο του ιού μπορεί να εξελιχθούν και να δώσουν τελικά καρκινώματα. (Luria L et al, 2021).

Υπάρχουν πάνω από 100 υπότυποι του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων. Τα άτομα που έχουν πολλαπλούς ερωτικούς συντρόφους έχουν πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσουν κάποιον υπότυπο HPV καθώς αυτοί μεταδίδονται κυρίως με τη σεξουαλική επαφή. Οι βλάβες που προκαλούνται από τον HPV σε κάποιες περιπτώσεις είναι εμφανείς αλλά υπάρχουν και ορισμένες περιπτώσεις που οι βλάβες δεν είναι εμφανείς και απαιτείται έλεγχος για ανίχνευση ιικού DNA ώστε να γίνει η διάγνωση. Η μεγάλη πλειοψηφία των μολύνσεων από HPV είναι λανθάνουσες και οι κύριες κλινικές βλάβες που εμφανίζονται είναι κονδυλώματα και όχι κακοήθειες (Luria L et al, 2021).

Ο ιός HPV έχει ενοχοποιηθεί σήμερα για καρκίνους του λάρυγγα, του στόματος, του πνεύμονα καθώς και του αναπαραγωγικού συστήματος. Οι υπότυποι 6 και 11 χαρακτηρίζονται ως χαμηλού κινδύνου και εκδηλώνονται κλινικά με κονδυλώματα και προκαρκινικές αλλοιώσεις. Οι υπότυποι 16 και 18 χαρακτηρίζονται ως υψηλού κινδύνου και προκαλούν σοβαρές ενδοθηλιακές αλλοιώσεις που πολλές φορές οδηγούν σε καρκίνους. Ωστόσο πρέπει να τονιστεί ότι ο ιός από μόνος του δεν είναι καρκινογόνος αλλά θα πρέπει να συντρέξουν και άλλοι παράγοντες που οδηγούν σε καρκινογένεση όπως το κάπνισμα, η ανεπάρκεια φυλλικού οξέος, η έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, η ανοσοκαταστολή, η εγκυμοσύνη καθώς και η μακροχρόνια λήψη από του στόματος αντισυλληπτικών (για διάστημα μεγαλύτερο των πέντε χρόνων). Από τους διαφορετικούς γονότυπους που έχουν ανακαλυφθεί μέχρι σήμερα

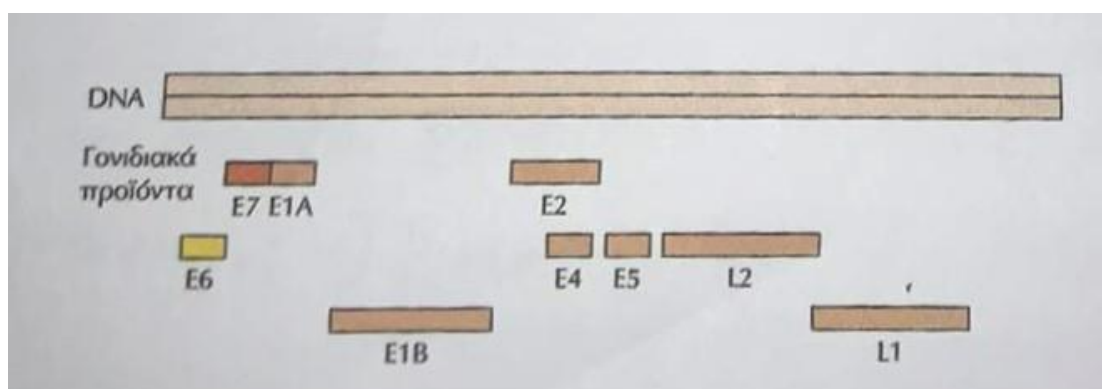
περίπου 30 μολύνουν τα επιθήλια του δέρματος, των βλεννογόννων του κατώτερου γεννητικού συστήματος και της περιοχής του πρωκτού. Οι 30 αυτοί HPV είναι γνωστοί ως γεννητικοί τύποι. Οι γεννητικοί τύποι των HPV χωρίζονται κυρίως σε δυο κατηγορίες χαμηλού και υψηλού κινδύνου. Η ομάδα χαμηλού κινδύνου περιλαμβάνει τους HPV:6,11,40,42,43,44,54,61,72,73,81 κ.ά. Οι HPV αυτής της ομάδας ονομάζονται έτσι επειδή προκαλούν κατά κανόνα καλοήθεις αλλοιώσεις. Τα γνωστά από την αρχαιότητα οξυτενή κονδυλώματα προκαλούνται συνήθως από τους HPV 6 και 11. Η ομάδα υψηλού κινδύνου περιλαμβάνει τους HPV 16,18,26,31,33,34,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82 κ.ά. Υπάρχει -πολύ μικρή πιθανότητα- η ενεργός λοίμωξη των κυττάρων από αυτούς τους HPV να καταλήξει μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα σε κακοήθη εξαλλαγή των κυττάρων και καρκίνο. Ο κίνδυνος αφορά κυρίως στον τράχηλο της μήτρας. Οι υπόλοιποι καρκίνοι που συνδέονται αιτιολογικά με τους HPV είναι σπανιότεροι. Από την ομάδα υψηλού κινδύνου οι πιο επικίνδυνοι είναι οι HPV 16 και 18. Πρέπει να διευκρινιστεί ότι η μόλυνση από τους επικίνδυνους HPV δεν αρκεί από μόνη της για να οδηγήσει σε καρκίνο. Πρέπει να συνυπάρξουν πολλοί άλλοι δυσμενείς παράγοντες (όπως πλημμελής λειτουργία ανοσοποιητικού συστήματος, γενετική προδιάθεση, συνεργοί παράγοντες π.χ. κάπνισμα κ.ά.). Έτσι εξηγείται το γεγονός ότι ενώ η μόλυνση (και από τους HPV υψηλού κινδύνου) είναι πολύ συχνή στο γενικό πληθυσμό, τα περιστατικά καρκίνου είναι σχετικά λίγα (Luria L et al, 2021).

Υπότυποι χαμηλού κινδύνου: 6,11,40,42, 43,44,54,6 1,72,73,81	Κονδυλωμάτων και προκαρκινικών αλλοιώσεων: 6,11	Υπότυποι υψηλού κινδύνου: 16,18,26, 31,33,34,35,39,45, 51,52,53,56,58,59, 66,68,73,82	Επικινδυνότεροι υπότυποι υψηλού κινδύνου: 16,18
--	--	---	--

Πίνακας 1: Πίνακας διαφόρων υπότυπων γονοτύπων HPV (Luria L et al, 2021).

Παθοφυσιολογία του ιού

Οι ιοί των θηλωμάτων (papillomaviruses) είναι μικροί ιοί DNA (με γονιδίωμα μήκους περίπου 8 kb) που προκαλούν τόσο καλοήθεις όσο και κακοήθεις όγκους σε ανθρώπους και διάφορα είδη ζώων. Έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 100 είδη ιών των θηλωμάτων του ανθρώπου, οι οποίοι μολύνουν τα επιθηλιακά κύτταρα διαφορετικών ιστών. Ορισμένοι από αυτούς τους ιούς προκαλούν μόνο καλοήθεις όγκους (όπως είναι οι κρεατοελιές), ενώ άλλοι προκαλούν κακοήθη καρκινώματα, συγκεκριμένα καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και άλλους καρκίνους της πρωκτογεννητικής περιοχής [(Shen, 2020; Luria L et al, 2021; Το κύτταρο: Μια μοριακή προσέγγιση (Τόμος 2^{ος} σελ.1091, Cooper C.M. and Hausman, Ακαδ. Εκδ. Μπασδρά, Αλεξ/πολη 2011)]. Ο κυτταρικός μετασχηματισμός από τον ιό των θηλωμάτων είναι αποτέλεσμα της έκφρασης δυο γονιδίων της πρώιμης περιοχής του ιικού γονιδιώματος, τα οποία ονομάζονται E6 και E7. Οι πρωτεΐνες E6 και E7, όπως και το αντιγόνο T του SV40, προκαλούν μετασχηματισμό αλληλοεπιδρώντας με πρωτεΐνες των κυττάρων-ξενιστών (π.χ. με τις πρωτεΐνες Rb και p53) που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση κυττάρων. Συγκεκριμένα η E7 προσδένεται στην Rb και E6 επάγει τη διάσπαση του p53 με πρωτεόλυση που εξαρτάται από την ουβικιτίνη [Το κύτταρο: Μια μοριακή προσέγγιση (Τόμος 2^{ος} σελ.1091, Cooper C.M. and Hausman, Ακαδ. Εκδ. Μπασδρά, Αλεξ/πολη 2011)].



Εικόνα 1: **Το γονιδίωμα του ιού των θηλωμάτων.** Γονιδιακά προϊόντα του ιού συμβολίζονται με το γράμμα E (πρώιμα) ή με το γράμμα L (ώριμα) και έναν αριθμό. Ο μετασχηματισμός είναι αποτέλεσμα της δράσης των γονιδιακών προϊόντων E6 και E7 [Το κύτταρο: Μια μοριακή προσέγγιση (Τόμος 2^{ος} σελ.1091, Cooper C.M. and Hausman, Ακαδ. Εκδ. Μπασδρά, Αλεξ/πολη 2011)].

Διαχείριση και Θεραπεία

Σε περίπτωση εμφάνισης δερματικών κονδυλωμάτων υπάρχουν πολλές διαθέσιμες θεραπευτικές προσεγγίσεις όπως χειρουργική αφαίρεση, κρυοθεραπεία, αφαίρεση με laser ή ανοσορυθμιστικά φάρμακα.

Σε περίπτωση ανάπτυξης καρκινωμάτων είτε στο στόμα είτε στο γεννητικό σύστημα η αντιμετώπιση μπορεί να περιλαμβάνει εκτομή, χημειοθεραπεία ή και ακτινοθεραπεία.

Ωστόσο οι βλάβες στην περιοχή του τραχήλου της μήτρας είναι δυνατό να υποχωρήσουν χωρίς καμία παρέμβαση. Σε νεαρές γυναίκες με αλλοιώσεις γίνεται παρακολούθηση σε τακτά χρονικά διαστήματα με τεστ Παπανικολάου, δοκιμές HPV καθώς και κολποσκοπικές απεικονίσεις. Σε μεγαλύτερες γυναίκες και εφόσον οι αλλοιώσεις παραμένουν, μπορεί να εφαρμοστεί κρυοθεραπεία ή εκτομή της προσβεβλημένης περιοχής. Αν η αλλοίωση μετατραπεί σε κακοήθεια (καρκίνος πλακωδών κυττάρων ή ενδοτραχηλικό αδenoκαρκίνωμα) μπορεί να απαιτηθεί περαιτέρω εκτομή, χημειοθεραπεία ή και ακτινοθεραπεία (Luria L et al, 2021; Porras G.O.R. et al, 2018).

1.3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ένας από τους πιο συχνά εμφανιζόμενους γυναικολογικούς καρκίνους παγκοσμίως .Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα δεδομένα είναι ο δέκατος τέταρτος πιο συχνά εμφανιζόμενος καρκίνος μεταξύ όλων των καρκίνων και ο τέταρτος μεταξύ των γυναικολογικών καρκίνων . Κάθε χρόνο πάνω από 500.000 νέες περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας εμφανίζονται παγκοσμίως με πάνω από 250.000 γυναίκες να χάνουν ετησίως τη ζωή τους (Fowler JR et al, 2021).

Η βασική αιτία του καρκίνου του τραχήλου είναι ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV). Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, ο ιός αυτός θα υπάρξει στην πλειονότητα των σεξουαλικά ενεργών ατόμων τουλάχιστον μια φορά κατά την διάρκεια της ζωής τους. Τα ποσοστά της δυσπλασίας μετρούνται μόνο στις γυναίκες γιατί για τους άνδρες δεν υπάρχουν αντίστοιχα ερευνητικά πρωτόκολλα. Ο μεγαλύτερος κίνδυνος εμφάνισης είναι σε νεαρές γυναίκες ηλικίας έως 25 ετών με τους θανάτους από καρκίνο να κορυφώνονται μεταξύ 40 και 50. Οι παράγοντες κινδύνου για τον HPV και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας είναι η ηλικία της πρώτης σεξουαλικής επαφής, η εναλλαγή πολλών ερωτικών συντρόφων, το κάπνισμα, ο απλός έρπητας, η μακροχρόνια χρήση αντισυλληπτικών λαμβανόμενων από το στόμα. Ο ιός μεταδίδεται μέσω της σεξουαλικής επαφής, μέσω βλαβών του δέρματος, μέσω της επαφής του χεριού με τα γεννητικά όργανα και με το στοματικό έρωτα (Fowler JR et al, 2021).

Η αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου τη μήτρας στηρίζεται κυρίως στη πρωτογενή πρόληψη η οποία είναι ο καλύτερος τρόπος για τη μείωση της σοβαρότητας και της θνησιμότητας της ασθένειας. Στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες αναπτυσσόμενες χώρες, η πρωτογενής πρόληψη επικεντρώνεται κυρίως στον έγκαιρη ανίχνευση βλαβών που προκαλεί ο ιός HPV κυρίως μέσω των τεστ Παπανικολάου και των δοκιμών HPV (Fowler JR et al, 2021).

Στις γυναίκες κάτω των 30 ετών δεν συστήνονται οι δοκιμές HPV, ωστόσο συστήνεται το τεστ Παπανικολάου που πρέπει να ξεκινάει από την ηλικία των 21 ετών και να συνεχίζεται μέχρι την ηλικία των 65 ετών σύμφωνα με τις συστάσεις, σύμφωνα με τις συστάσεις της Ειδικής Ομάδας Προληπτικών Υπηρεσιών των Ηνωμένων Πολιτειών. Οι γυναίκες που έχουν υποστεί ολική υστερεκτομή, συμπεριλαμβανομένης της

αφαίρεσης του τραχήλου της μήτρας για καλοήγη νόσο, δεν απαιτείται να υποβάλλονται σε περαιτέρω έλεγχο (Fowler JR et al, 2021).

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας οφείλεται σε έναν ιό (HPV) που μεταδίδεται με την σεξουαλική επαφή και επομένως μπορεί να προληφθεί. Γενικά έχει διαπιστωθεί ότι η πρόληψη είναι χαμηλότερη σε περιοχές χαμηλού οικονομικό-κοινωνικού επιπέδου και σε ομάδες εθνικών μειονοτήτων. Σε μελέτη που περιλάμβανε γυναίκες μειονοτήτων στο Ηνωμένο Βασίλειο εμφανίστηκε πολύ μικρός βαθμός πρόληψης που οφειλόταν σε έλλειψη συνειδητοποίησης, σε φόβο, αμηχανία και ντροπή (Foran C, 2015). Σε άλλη μελέτη σε γυναίκες της Αϊτής διαπιστώθηκε η ύπαρξη κοινωνικό-οικονομικών εμποδίων, γλωσσικών εμποδίων και χαμηλού μορφωτικού επιπέδου (Pierre-Victor D, 2018). Στις Ηνωμένες Πολιτείες περίπου 4.000 γυναίκες πεθαίνουν ετησίως στη πλειοψηφία τους Αφροαμερικανές, ισπανόφωνες και γενικά γυναίκες από περιοχές με χαμηλούς πόρους. Ακόμη έχει διαπιστωθεί ότι παχύσαρκες γυναίκες ή γυναίκες με χρόνια νοσήματα κάνουν σε μικρότερο βαθμό προληπτικές εξετάσεις για το καρκίνο του τραχήλου ή του μαστού [(Fowler JR et al, 2021; Brisson et al, 2019; Pimple et al, 2019; Cervical Cancer Screening Every 5 Years OK. Cancer Discov. 2018 Oct;8(10):1204. doi: 10.1158/2159-8290.CD-NB2018-118. Epub 2018 Sep 11. PMID: 30206109].

Διάγνωση

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας στα αρχικά στάδια συνήθως δεν δίνει συμπτώματα. Για τη διάγνωση αρχικά λαμβάνεται ένα πλήρες ιστορικό σε συνδυασμό με μια φυσική εξέταση. Το ιατρικό ιστορικό περιλαμβάνει πληροφορίες όπως η ηλικία της πρώτης σεξουαλικής επαφής, αν υπήρχαν προηγούμενες σεξουαλικές λοιμώξεις, ο αριθμός των ερωτικών συντρόφων, αν υπάρχει πόνος κατά τη σεξουαλική επαφή, αν η γυναίκα είναι καπνίστρια και αν έχει εμβολιαστεί κατά του ιού HPV. Επίσης ο γιατρός λαμβάνει πληροφορίες για την ύπαρξη επίμονων κολπικών εκκρίσεων, ερεθισμών κ.λ.π. Η φυσική εξέταση περιλαμβάνει πλήρη αξιολόγηση των εσωτερικών και εξωτερικών γεννητικών οργάνων. Η ανακάλυψη τραχηλικών βλαβών και αλλοιώσεων πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω ώστε να διαπιστωθεί αν πρόκειται για καρκίνο ή αν οφείλονται σε άλλες αιτίες όπως σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις, ινομύματα του τραχήλου της μήτρας, ενδομητρίωση ή τραχηλικοί πολύποδες. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να απαιτείται και βιοψία για την οριστική διάγνωση (Fowler JR et al, 2021; Rauh-Hain et al, 2018; Rauh-Hain et al, 2013; Shachner et al, 2018; Spinner et al, 2019).

Πρόγνωση

Γενικά όσο νωρίτερα γίνει η διάγνωση, τόσο καλύτερη είναι η πρόγνωση. Η καθυστερημένη διάγνωση μειώνει τη πιθανότητα επιβίωσης και αυξάνει τη πιθανότητα υποτροπής. Το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας αγγίζει το 92%. Στις Αφροαμερικανές γυναίκες το ποσοστό επιβίωσης αγγίζει μόλις το 50%. Ο βασικότερος παράγοντας για την καθυστερημένη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας οφείλεται στο ότι οι γυναίκες αμελούν το προληπτικό έλεγχο ενώ η αυξημένη θνησιμότητα οφείλεται στο ότι πλέον η ασθένεια βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο όταν ξεκινάει η θεραπευτική αντιμετώπιση καθώς και στη κακή ποιότητα της παρεχόμενης φροντίδας.

Από την άλλη το εμβόλιο κατά του HPV εμφανίζει αποτελεσματικότητα περίπου 90%. Επομένως ένα εκτεταμένο πρόγραμμα εμβολιασμού θα μπορούσε να μειώσει τη θνησιμότητα κυρίως σε περιοχές με χαμηλούς πόρους (Fowler JR et al, 2021).

I.4. ΜΙΚΡΑ ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ ΜΟΡΙΑ RNA (micro RNAs)

Ανακάλυψη του πρώτου miRNA

Το πρώτο microRNA ήταν το lin-4 που ανακαλύφθηκε το 1993 από τις ομάδες Ambros και Ruvkun στο εργαστήριο Horvitz και έφερε πραγματική επανάσταση στην επιστήμη της μοριακής βιολογίας. Το lin-4 ήταν γνωστό από παλιότερα αλλά θεωρούνταν ως ένα γονίδιο που ρύθμιζε την ανάπτυξη των προνυμφών του είδους *Caenorhabditis elegans*. Στη συνέχεια το 1987, η ίδια ομάδα παρατήρησε ότι μια μετάλλαξη στο lin-4 οδήγησε σε ένα φαινότυπο αντίθετο από αυτόν που δημιουργήθηκε από μια μετάλλαξη σε ένα άλλο γονίδιο lin-14. Οι δύο επιστήμονες συνέχισαν να μελετούν τα lin-4 και lin-14 και τελικά κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το lin-4 δεν ήταν RNA που κωδικοποιεί πρωτεΐνη αλλά ένα μικρό μη κωδικό μόριο RNA με αλληλουχία νουκλεοτιδίων συμπληρωματική με την 3' αμετάφραστη περιοχή (3-UTR) του γονιδίου lin-14. Επίσης διαπίστωσαν ότι το lin-14 ρυθμίστηκε μετά-μεταγραφικά μέσω της 3' UTR περιοχής του και έτσι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το lin-4 ρυθμίζει το lin-14 στο μετά-μεταγραφικό επίπεδο. Μετά από αυτή την ανακάλυψη του πρώτου miRNA, αυτά έχουν ανιχνευτεί σε όλα τα ζωικά μοντέλα και διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ειδών. Σήμερα ανακαλύπτονται όλο και περισσότερα miRNAs και μελετάται εκτενώς η επίδρασή τους στην γονιδιακή ρύθμιση (O'Brien J et al, 2018).

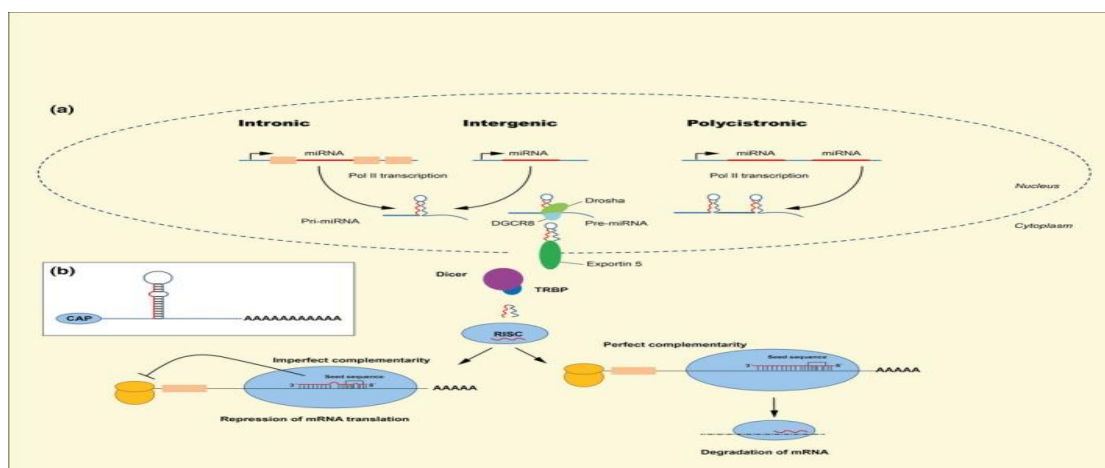
Τα μικρά μη κωδικά μόρια RNA έχουν μήκος κατά μέσο όρο 22 νουκλεοτίδια. Αρχικά μεταγράφονται από αλληλουχίες DNA σε πρωτογενή miRNAs (pri-miRNAs), τα οποία μετατρέπονται στη συνέχεια σε πρόδρομα miRNAs και τελικά σε ώριμα miRNAs. Στη πλειονότητα των περιπτώσεων τα miRNAs αλληλεπιδρούν με τα 3' αμετάφραστα άκρα των mRNAs με σκοπό την καταστολή της έκφρασή τους, ωστόσο έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις miRNAs που δρουν στις 5' αμετάφραστες περιοχές, σε κωδικές περιοχές ακόμη και στη περιοχή του υποκινητή ενός γονιδίου. Επίσης ενώ συνήθως καταστέλλουν την έκφραση, υπάρχουν και περιπτώσεις όπου η πρόσδεση του miRNA ενεργοποιεί την έκφραση κάποιου γονιδίου υπό ορισμένες συνθήκες. Επίσης πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα miRNAs κατανέμονται διαφορετικά στα διάφορα υποκυτταρικά διαμερίσματα, ώστε να επιτυγχάνεται καλύτερος έλεγχος της μεταγραφής (Bukhari et al, 2016; Vasudevan et al, 2007) και του ρυθμού της μετάφρασης (O'Brien J et al, 2018; Pitchiaya et al, 2017; Xiao et al, 2017).

Σήμερα είναι αποδεδειγμένο ότι τα miRNAs είναι κρίσιμα για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης σε μετά-μεταγραφικό επίπεδο σε ανθρώπους, φυτά και ζώα. Μπορούν να ελέγξουν πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων, ο κυτταρικός θάνατος, η ομοιόσταση και η λειτουργία των οργάνων. Η δράση τους έγκειται στην καταστολή ή την αποικοδόμηση του mRNA-στόχου μέσω του συμπλόκου που σχηματίζεται από το miRNA με το σύμπλεγμα πρωτεϊνών RISC, το οποίο προσδένεται στις 3-αμετάφραστες περιοχές του mRNA – στόχου. Η δραστηριότητα των miRNAs επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η θέση τους μέσα στο κύτταρο, ο λόγος miRNA/mRNA, ο τύπος και η κατάσταση του κυττάρου και η διαθεσιμότητα των συστατικών που συνθέτουν το σύμπλοκο miRISC (O'Brien J et al, 2018). miRNAs έχουν βρεθεί στα σωματικά υγρά, στους ιστούς και στα κύτταρα των περισσότερων θηλαστικών. Στον άνθρωπο υπολογίζεται ότι πάνω από 60 % του γονιδιώματος ρυθμίζεται από miRNAs. Ο αριθμός των νέων miRNAs που ανακαλύπτονται συνεχώς αυξάνει και σήμερα γνωρίζουμε ότι ένα γονίδιο μπορεί να ρυθμίζεται από πολλά miRNAs και επίσης το ίδιο miRNA μπορεί να ρυθμίζει πολλά γονίδια (Sadri Nahand, 2020).

Ακόμη και μικρές αλλαγές στην έκφραση των miRNAs μπορεί να οδηγήσει σε απορρύθμιση των γονιδίων στόχων και να οδηγήσει σε πλήθος παθολογικών καταστάσεων και ασθενειών στον άνθρωπο, όπως καρκίνος, αυτοάνοσες ασθένειες, ασθένειες του νευρικού συστήματος και καρδιαγγειακές παθήσεις. Στον καρκίνο, τα miRNAs μπορούν να έχουν ογκοκατασταλτική δράση ή να λειτουργήσουν ως ογκογόνα ανάλογα με τη δραστηριότητα των γονιδίων στόχων τους. Η απώλεια της ογκοκατασταλτικής δράσης των miRNAs επηρεάζει τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και των διαδικασιών απόπτωσης και οδηγεί σε καρκίνους ενώ από την άλλη η ενεργοποίηση ογκογόνων miRNAs διεγείρει βασικά μονοπάτια στη μεταστατική διαδικασία καρκίνων (Sadri Nahand, 2020).

Βιογένεση των miRNAs

Ο μηχανισμός βιοσύνθεσης των miRNAs είναι ο ακόλουθος : Αρχικά σχηματίζεται ένα πρόωμο miRNA (pri-miRNA) το οποίο μπορεί να είναι μονοσιστρονικό ή πολυσιστρονικό ανάλογα με την οργάνωση των γονιδίων από τα οποία προέρχεται. Το πρόωμο αυτό miRNA προκύπτει από τη μεταγραφή του αντίστοιχου γονιδίου με τη δράση της πολυμεράσης II ή III. Το μετάγραφο που προκύπτει έχει μια δευτεροταγή δομή φουρκέτας . Στη συνέχεια το pri-miRNA διασπάται με τη βοήθεια του συμπλόκου Drosha-DGCR8 (ενεργό σύμπλοκο μικροεπεξεργαστή) σε πρόδρομο miRNA (pre-miRNA). Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται στο πυρήνα. Σε περίπτωση που το pri-miRNA είναι πολυσιστρονικό, διαχωρίζονται ένα -ένα τα pre-miRNA. Ένα pre-miRNA έχει μέγεθος περίπου 60-80 νουκλεοτιδίων και διατηρεί την δομή της φουρκέτας. Στη συνέχεια το pre-miRNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα μέσω της εξαπορτίνης-5. Εκεί το πρόδρομο miRNA υφίσταται περαιτέρω τροποποίηση με την δράση της RNAασης Dicer για να καταλήξει στο κανονικό μήκος των περίπου 22 νουκλεοτιδίων που έχουν τα ώριμα miRNAs. Τα ώριμα miRNAs σχηματίζουν σύμπλοκο με την πρωτεΐνη TRBR. Στη συνέχεια οι πρωτεΐνες Αργοναύτες (AGO2) βοηθούν στη χαλάρωση του του δίκλωνου miRNA και ένας κλώνος-καθοδηγητής ενσωματώνεται στο σύμπλοκο RISC (RNA-induced silencing complex) ενώ ο άλλος υποβαθμίζεται. Το σύμπλοκο miRNA-RISC είναι τώρα έτοιμο να δράσει πάνω στα mRNAs-στόχους και είτε να οδηγήσει σε αποικοδόμησή τους είτε σε αναστολή της μεταγραφής τους (Σχήμα 2) (Vienberg, 2017).



Σχήμα 2 : α) Μονοπάτι βιοσύνθεσης miRNAs β): Ένας μέσο πρόδρομο miRNA που αποτελείται από μια δομή φουρκέτας 33 ζευγών βάσεων, από ένα βρόχο και από δύο άκρα, από τα οποία το 3' άκρο είναι πολυαδενυλιωμένο (Vienberg, 2017).

Μηχανισμοί ρύθμισης γονιδίου που ελέγχεται από miRNA

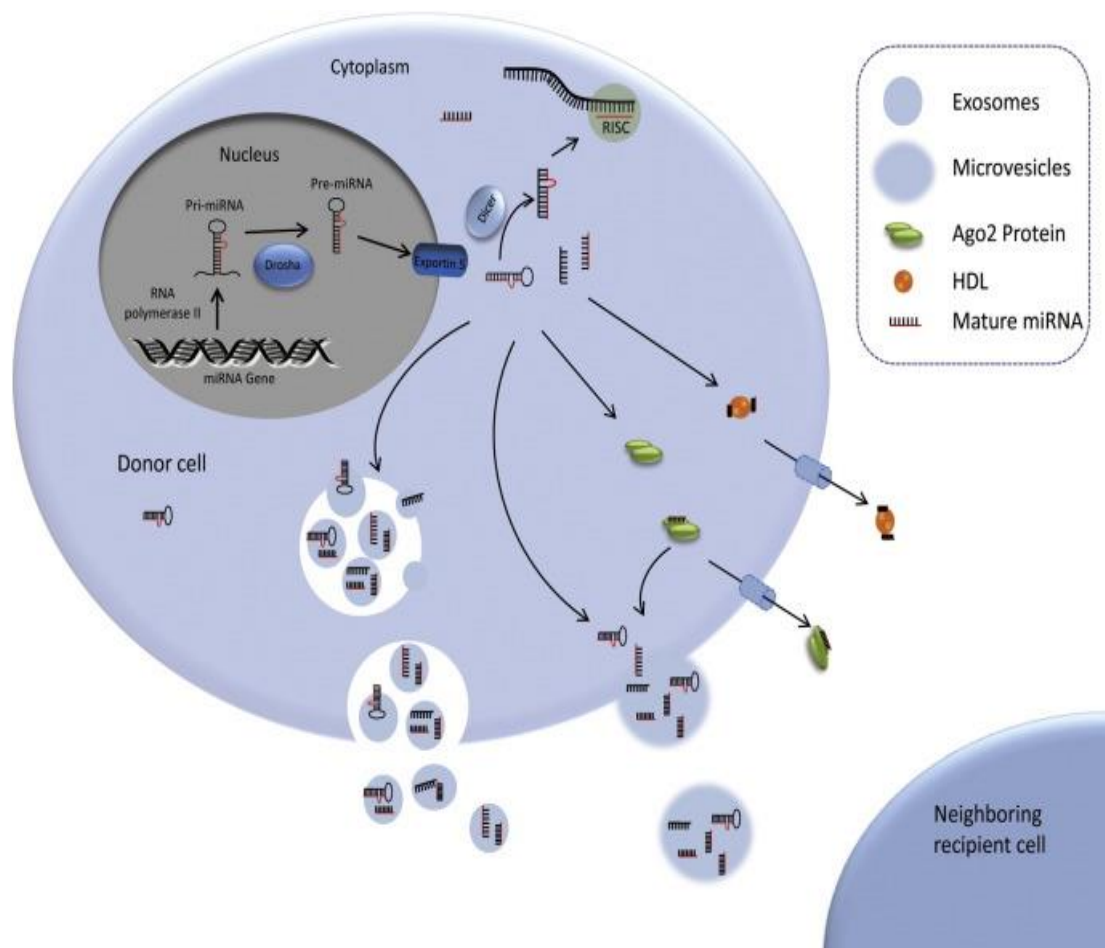
Μελέτες έως τώρα έχουν δείξει ότι η πρόσδεση των miRNAs στις 3'-αμετάφραστες περιοχές των mRNAs στόχων προκαλεί μεταφραστική καταστολή, αποαδενυλίωση ή αποικοδόμηση του mRNA. Η σύνδεση των miRNAs σε 5' αμετάφραστες περιοχές ή σε κωδικές περιοχές έχει ως αποτέλεσμα τη σίγαση της έκφρασης του γονιδίου ενώ η σύνδεση του σε περιοχή υποκινητή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της μεταγραφής. Ωστόσο απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την πλήρη κατανόηση του περίπλοκου τρόπου δράσης των miRNAs (O'Brien J et al, 2018).

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι για τη λειτουργία των miRNAs ως μετά-μεταγραφικοί παράγοντες συμμετέχουν και άλλα μόρια RNA, τα λεγόμενα κυκλικά RNAs (circRNAs) τα οποία μπορούν να δράσουν ως «σπόγγι» (sponges) για τα miRNAs. Οι μελέτες δείχνουν ότι το circRNA μπορεί να δράσει ως μετά-μεταγραφικός ρυθμιστής και να εμποδίσει την πρόσδεση άλλων μορίων RNA σε miRNAs ή σε RNA-binding proteins (RBPs). Επίσης παίζουν ρόλο στη ρύθμιση των τοπικών συγκεντρώσεων RBP, RNA ή των θέσεων δέσμευσής τους. Έτσι για παράδειγμα το ciRs-7 μπορεί να αναστέλλει σημαντικά τη λειτουργία του miR-7, οδηγώντας έτσι σε υπερέκφραση του γονιδίου στόχου του (Liu J., 2021).

Κυκλοφορούντα miRNAs

Αρχικά θεωρήθηκε ότι τα miRNAs δεν μπορούν να ανακαλυφθούν στον ορό καθότι το RNA αποδομείται ταχέως όταν μεταφέρεται στο αίμα λόγω των ριβοζονουκλεασών (RNases). Οι RNases είναι μια ομάδα υδρολυτικών ενζύμων που αποδομούν τα μόρια RNA. Μεταγενέστερα ανακαλύφθηκαν και αξιοποιήθηκαν secreted miRNAs, μια νέα μορφή ενδοκυτταρικής επικοινωνίας, ενσωματωμένων σε εξωσωμάτια και κοκκώδη κυστίδια κυκλοφορούντα στο αίμα. Τα εξωσωμάτια περικλείουν mRNA και miRNA που δύναται να μεταφερθούν σε διαφορετικά κύτταρα και να παραμένουν λειτουργικά στη νέα τους εγκατάσταση. Πολλές μελέτες έχουν ανιχνεύσει miRNAs σε εξωκυτταρικά υγρά. Αυτό είναι πολύ σημαντικό καθώς τα εξωκυτταρικά mRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως χρήσιμοι βιοδείκτες για την διάγνωση πολλών ασθενειών. Τα εξωκυτταρικά miRNAs μπορούν να κυκλοφορήσουν και να δράσουν πάνω σε κύτταρα στόχους και να ρυθμίσουν κυτταρικές δραστηριότητες λειτουργώντας ως αυτοκρινείς, παρακρινείς ή ενδοκρινείς ρυθμιστές παρουσιάζοντας

δηλαδή ορμονική δραστηριότητα. Έτσι λειτουργούν ως διαμεσολαβητές στη διακυτταρική επικοινωνία, ωστόσο οι μηχανισμοί δράσης είναι εξαιρετικά πολύπλοκοι και απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση. Οι πρόσφατες εξελίξεις στην απεικόνιση ενός μορίου και η προβολή της κίνησης ενός miRNA ή και mRNA με υψηλή χωρική και χρονική ανάλυση θα βοηθήσουν τους επιστήμονες να κατανοήσουν αυτή την πολύπλοκη δυναμική (O'Brien J et al, 2018).



Εικόνα 2: Βιογένεση miRNAs και απελευθέρωση miRNAs στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Τα Pri-miRNAs μεταγράφονται από την πολυμεράση RNA II και αργότερα επεξεργάζονται από την Drosha σε Pre-miRNAs. Η Exportin 5 μεταφέρει αυτά τα Pre-miRNAs από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα όπου ο Dicer τα επεξεργάζεται σε ώριμα miRNAs. Τα ώριμα miRNAs μπορούν να ενσωματωθούν επιλεκτικά στα εξωσωμάτια ή να συζευχθούν με την πρωτεΐνη Ago2 και να απελευθερωθούν σε εξωκυττάριο περιβάλλον. Εναλλακτικά, μπορούν να τυλιχθούν με μικροσωματίδια ή να συνδεθούν με HDL και αργότερα να απελευθερωθούν σε εξωκυττάριο περιβάλλον (Mahmodul Hasan Sohel, Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges, Achievements in the Life Sciences, Volume 10, Issue 2, 2016, Pages 175-186, ISSN 2078-1520, <https://doi.org/10.1016/j.als.2016.11.007> (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2078152016300797>).

Π.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση και αποτύπωση των πιο σύγχρονων ερευνητικών δεδομένων σχετικά με τη δράση και των τρόπο έκφρασης των miRNAs στην εμφάνιση και την εξέλιξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επίσης γίνεται παρουσίαση των προοπτικών χρήσης των miRNAs ως πιθανών διαγνωστικών βιοδεικτών για την έγκαιρη ανίχνευση και διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας καθώς και της επίδρασής τους στην ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στις μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

III.1. Ρόλος των miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

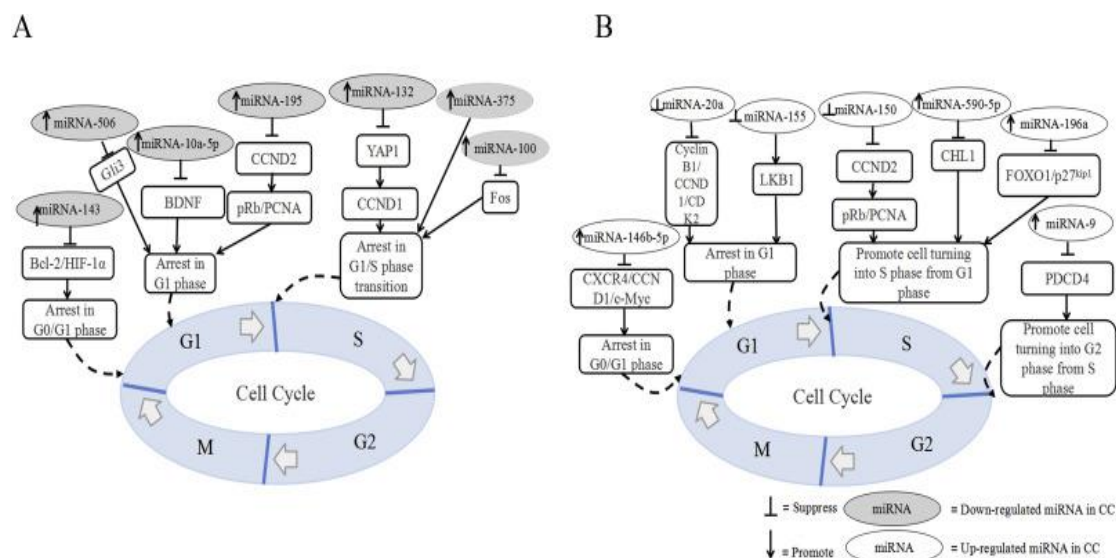
Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ο τέταρτος πιο συχνά εμφανιζόμενος καρκίνος παγκοσμίως καθώς και η τέταρτη αιτία θανάτου στις γυναίκες όσον αφορά στους καρκίνους. Το 2018 καταγράφηκαν σε παγκόσμιο επίπεδο 570.000 διαγνώσεις με τους θανάτους να αγγίζουν τις 311.000. Η συντριπτική πλειοψηφία των θανάτων αυτών (85%) καταγράφονται στις αναπτυσσόμενες ή υποανάπτυκτες χώρες. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας (KTM) οφείλεται στην πλειονότητα των περιπτώσεων σε μόλυνση από υποτύπους του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV). Το γονιδίωμα του ιού έχει ανιχνευτεί στο 95% των KTM. Οι περισσότερες μολύνσεις είναι παροδικής φύσεως και εξαφανίζονται αυτόματα χωρίς να απαιτούν περαιτέρω διαχείριση. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις που η λοίμωξη επιμένει και οδηγεί σε προκαρκινικές αλλοιώσεις γνωστές ως τραχηλική νεοπλασία. Ένα βασικό βήμα για την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου είναι η ενσωμάτωση των ογκογονιδίων E7 και E6 του ιού στο γονιδίωμα του ξενιστή. Στα αρχικά στάδια, δεν υπάρχει βλάβη του κυττάρου επομένως και δεν ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα. Καθώς ο ιός εγκαθίσταται και ολοκληρώνει το κύκλο ζωής του, προκαλούνται αλλαγές στην έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινών, η οποία στη συνέχεια προκαλεί διήθηση ανοσοκυττάρων. Σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας έχει διαπιστωθεί μεγαλύτερη αύξηση της έκκρισης των κυτοκινών, για αυτό και σε αυτές τις ηλικίας είναι πιο πιθανή η διάγνωση KTM (Sadri Nahand, 2020).

Ωστόσο για την ανάπτυξη του καρκίνου απαιτούνται εκτός από τη μόλυνση από τον ιό και άλλοι επιβαρυντικοί παράγοντες όπως π.χ. περιβαλλοντικοί, αλλά και ενδογενείς παράγοντες όπως οι επιγενετικές ρυθμιστικές διαδικασίες που μπορούν να προκαλέσουν αδρανοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και ενεργοποίηση ογκογονιδίων οδηγώντας σε κακοήθειες. Σε αυτές τις διαδικασίες πρωταρχικό ρόλο παίζουν τα miRNAs που οι βασικές τους λειτουργίες είναι η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η απόπτωση, η μετάσταση και η χημειοαντίσταση. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως καρκίνους ή ιογενείς λοιμώξεις υπάρχουν miRNAs με διαφορετικά προφίλ έκφρασης σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα.

Αντίθετα, υπάρχουν επαρκή δεδομένα για να επιβεβαιωθεί η ύπαρξη αλληλοσυσχέτισης μεταξύ μικροβιώματος και miRNAs στο καρκίνωμα του τραχήλου

της μήτρας. Έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχει μια συνεχής επικοινωνία μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του μικροβιώματος του κόλπου, και ότι η φυσιολογική μικροχλωρίδα της περιοχής υπερασπίζεται τα κύτταρα ξενιστές έναντι των παθογόνων μικροβίων και του καρκίνου του τραχήλου. Σήμερα έχει βρεθεί ότι ένα αντίστοιχο ρόλο μπορούν να παίξουν και τα miRNAs αν και οι μηχανισμοί με τους οποίους συμβαίνει αυτό δεν έχουν εξακριβωθεί επαρκώς. Φαίνεται ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί ρύθμισης της λειτουργίας των κυττάρων του τραχήλου, μπορούν να διαφυλάξουν την ακεραιότητα του κυτταρικού φραγμού και να προστατέψουν από κακοήθειες (Allegra A, 2020).

Με τη χρήση μεθόδων μικροσυστοιχιών έχει μελετηθεί η επίδραση των miRNAs σε πολλούς συμπαγείς όγκους, όπως τα ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, οι καρκίνοι του παχέος εντέρου, του μαστού, των ωοθηκών και του τραχήλου. Ακόμη μελέτες έχουν δείξει ότι τα miRNAs συμμετέχουν στη ρύθμιση ανοσοαποκρίσεων και φλεγμονωδών δικτύων σε διάφορα κύτταρα και ιστούς. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου φλεγμονώδεις μεσολαβητές προκαλούν απορρύθμιση των miRNAs και άλλες περιπτώσεις όπου τα ίδια τα miRNAs λειτουργούν ως φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας έχουν διαπιστωθεί πολλά miRNAs που είτε υπερεκφράζονται είτε υποεκφράζονται συμβάλλοντας έτσι της ανάπτυξη της καρκινογένεσης (Sadri Nahand, 2020).



Πίνακας 2: **A.** Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου από miRNAs καθοδικά ρυθμιζόμενα στον KTM **B.** Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου από miRNAs ανοδικά ρυθμιζόμενα στον KTM (Μiao, 2020).

miR-7,miR-10a-5p,miR-26a,miR-30e,miR-101,miR-124,miR-124-3p,miR-125a-5p,miR-130a,miR-132,miR-136,miR-138,miR-139-3p,miR-142,miR-142-3p,miR-143,miR-149,miR-187,miR-196b,miR-202,miR-203,miR-206,miR-211,miR-214,miR-320,miR-342-3p,miR-362,miR-377,miR-411,miR-429

Πίνακας 3: Μειωμένη ρύθμιση έκφρασης miRNAs στον KTM που επηρεάζουν την απόπτωση.

↓: miR-10a-5p,miR-143,miR-506,miR-132,miR-145,miR-375,miR-101
↑: miR-9

Πίνακας 4: Διαφοροποιημένη έκφραση miRNAs στον KTM που επηρεάζουν τον κυτταρικό κύκλο είτε αυξημένη έκφραση (↑) είτε μειωμένη έκφραση (↓).

MiR-26a,miR-30e,miR-101,miR-124,miR-124-3p,miR-125a-5p,miR-126,miR-132,miR-136,miR-138,miR-139-3p,miR-142,miR-142-3p,miR-143,miR-144,miR-145,miR-149,miR-183,miR-187,miR-195,miR-196b,miR-200c,miR-203,miR-204,miR-206,miR-211,miR-214,miR-320,miR-329-3p,miR-337,miR-338-3p,miR-342-3p,miR-362,miR-375,miR-377,miR-411

Πίνακας 5: Μειωμένη ρύθμιση έκφρασης miRNAs στον KTM που επηρεάζει την μετάσταση.

miR-15a-3p,miR-18a,miR-132,miR-136

Πίνακας 6: Μειωμένη ρύθμιση έκφρασης miRNAs στον KTM που επηρεάζει την κυτταρική ακτινοευαισθησία και ανθεκτικότητα.

miR-30a,miR-125a,miR-126,miR-145,miR-214,miR-218,miR-234,miR-497

Πίνακας 7: Μειωμένη ρύθμιση έκφρασης miRNAs στον KTM που επηρεάζει την χημειοευαισθησία και ανθεκτικότητα στα φάρμακα.

Σε πρόσφατη μελέτη τους αναφέρθηκε ότι στον KTM υπάρχει απορρύθμιση 111 miRNAs και περιεγράφηκε η επίδραση της ανώμαλης έκφρασης τους (είτε ανοδικά είτε καθοδικά ρυθμιζόμενη) τόσο στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και της απόπτωσης, όσο και στον έλεγχο της μετανάστευσης, της εισβολής και της μετάστασης των καρκινικών κυττάρων στον KTM όπως φαίνεται στους παραπάνω πίνακες (Miao J, 2020).

Επίδραση των miRNAs στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και πολλαπλασιασμού στο καρκίνο τραχήλου μήτρας

miRNAs με μειωμένη έκφραση στον KTM

Το miR-7 ενέχεται σε πολλούς καρκίνους, είναι ογκοκατασταλτικό και έχει σημαντικά μειωμένη έκφραση στον KTM. Η αυξημένη έκφραση του miR-7 σε καρκινικές σειρές του τραχήλου της μήτρας HeLa και C-33a συμπύεσε την κυτταρική βιωσιμότητα και προήγαγε την απόπτωση ενώ η αναστολή του miR-7 είχε τα αντίθετα αποτελέσματα (Liu et al, 2013).

Το miR-143a λειτουργεί επίσης ως ογκοκατασταλτικό και παρεμποδίζει τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ένας άμεσος στόχος του miR-143a είναι ο παράγοντας HIF-1a, ο οποίος σε μειωμένη έκφραση του miR-143a προάγει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ακόμη αυτό το miRNA εμφανίζει και έμμεσο στόχο που είναι το Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) μέσω κασπασών. Η απορρύθμιση του μεταβολικού μονοπατιού οδηγεί στη μη είσοδο του κυτταρικού κύκλου σε φάση ηρεμίας και επομένως σε συνεχή πολλαπλασιασμό (Miao J, 2020).

miRNAs με αυξημένη έκφραση στο KTM

Εκτός από τα miRNAs που σε φυσιολογικούς ιστούς δρουν ως ογκοκατασταλτικά, υπάρχουν και ογκογόνα miRNAs που σε KTM έχει βρεθεί ότι υπερεκφράζονται και παίζουν ρόλο στην εξέλιξη του όγκου. Ένα από τα πιο καλά μελετημένα miRNAs είναι το miR-21 που εμπλέκεται στις προφλεγμονώδεις διεργασίες στην τραχηλίτιδα. Έχει βρεθεί ότι το miR-21, έχει πολλά γονίδια στόχους όπως PDCD4 (programmed cell death 4), PTEN (phosphatase and tensin homolog), αναστολέας ιστών των μεταλλοπρωτεϊνών-3 (TIMP-3 tissue inhibitor of metalloproteinase), TNF3 α (tumor necrosis factor alpha) και ANXA1 (annexin A1). Η υπερέκφραση του miR-21 οδήγησε σε αυξημένη παραγωγή της κυτοκίνης IL-6 (που προκαλεί φλεγμονή και ογκογένεση) και α-SMA (δείκτης ινοβλαστών) σε κυτταρικές σειρές HeLa και σε αξιοσημείωτη μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης PDCD4 που σχετίζεται με τον κυτταρικό θάνατο σε ιστούς KTM. Επίσης η αυξημένη έκφραση του miR-21 οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των PTEN και TIMP-3, τα οποία ρυθμίζουν αντίστροφα το μονοπάτι STAT3 το οποίο στη συνέχεια ρυθμίζει τις μεταλλοπρωτεΐνες MMP-2 και MMP-9. Τα MMP-2 και MMP-9 είναι μεταγενέστερα γονίδια-στόχοι της οδού STAT3. Η αύξηση της δραστηριότητας

STAT3 οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης των MMP-2 και MMP-9 οδηγώντας σε φλεγμονή και κυτταρική εισβολή (Shishodia G, 2015; Sadri Nahand, 2020).

Ο TNF α (tumor necrosis factor α) είναι ένα από τα πιο σημαντικά γονίδια στόχους του miR-21. Πρόκειται για μια κυτοκίνη που αποτελεί προφλεγμονώδη παράγοντα και ρυθμίζει το πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Υπερέκφραση του miR-21 προκαλεί ανοδική ρύθμιση του TNF- α . Έχει αποδειχθεί ότι ο παράγοντας αυτός μπορεί να έχει και προκαρκινικό και αντικαρκινικό ρόλο και μπορεί να ρυθμιστεί αρνητικά από το miR-130a. Υπόεκφραση του TNF- α μπορεί να διεγείρει την έκφραση του NP- κ B ώστε να αυξήσει την έκφραση του miR-130a. Αντίθετα υψηλά επίπεδα TNF- α μπορούν να καταστρέψουν τους όγκους. Το μονοπάτι TNF- α /NF- κ B/miR-130a μπορεί να ρυθμίσει την εξέλιξη και τη φλεγμονή στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Sadri Nahand, 2020).

Το miR-96 έχει βρεθεί πρόσφατα ότι υπερεκφράζεται σε καρκινικούς ιστούς και προωθεί το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ογκογένεση των καρκινικών κυττάρων μέσω της απορρύθμισης του μηχανισμού της σιγαστικής πρωτεΐνης PTPN9 (tyrosine phosphatase non-receptor type 9) (Miao J, 2020).

Επίδραση των miRNAs στη μετανάστευση, μετάσταση και εισβολή των καρκινικών κυττάρων

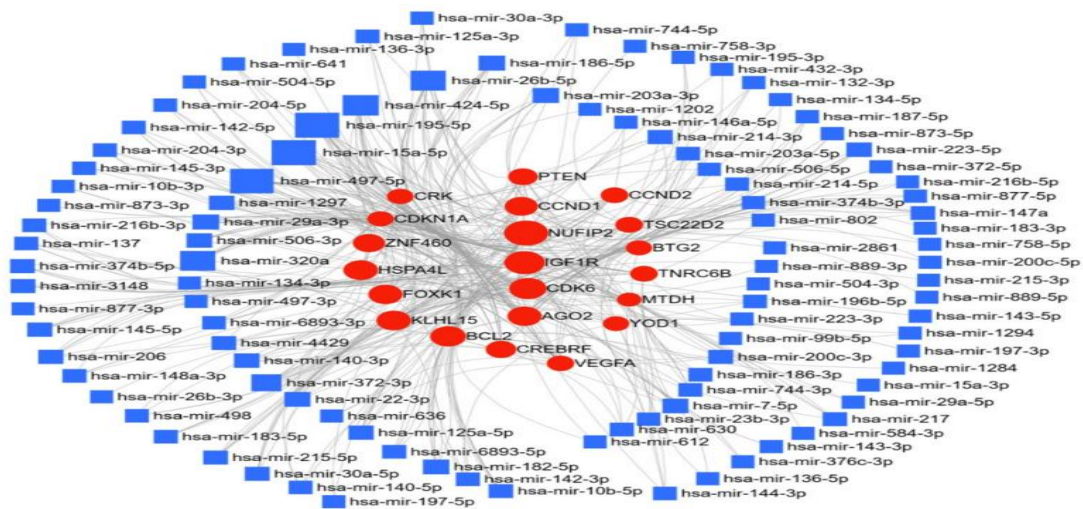
miRNAs με μειωμένη έκφραση

Ο Fan et al. (Fan JY, 2017) σε μελέτη τους διαπίστωσαν ότι το miR-429 είναι ένα miRNA που υποεκφράζεται στον KTM. Επίσης βρήκαν ότι αυτό το miRNA ελέγχει την έκφραση της πρωτεϊνικής κινάσης (IKKβ) που συμμετέχει στη ενεργοποίηση NF-κB. Παρατήρησαν λοιπόν ότι υποέκφραση του miR-429 οδήγησε σε ενεργοποίηση του μονοπατιού IKKβ /NP-κB και είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή των κυτοκινών IL-6 και IFN-β που ενισχύουν την φλεγμονή και την εξέλιξη του όγκου (Fan JY, 2017). Επίσης οι Huang et al (2013) βρήκαν ότι το miR-101 επίσης υποεκφράζεται σε KTM. Το miR-101 ελέγχει την έκφραση της κυκλο-οξυγενάσης-2 (COX-2) ένα ένζυμο που συμμετέχει σε πολλές φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Το miR-101 δρα ογκοκατασταλτικά μειώνοντας την έκφραση του COX-2 που έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με φλεγμονή και δημιουργία όγκων. Επομένως υποέκφραση του miR-101 έχει ως αποτέλεσμα της αύξηση της έκφρασης της κυκλοοξυγενάσης-2 και πυροδότηση φλεγμονωδών καταστάσεων που μπορεί να οδηγήσουν σε κακοήθεια (Huang F, 2013; Sadri Nahand, 2020).

Άλλα miRNAs που έχει βρεθεί ότι έχουν αλλοιωμένο προφίλ έκφρασης στον KTM είναι τα miR-34a, miR-1284 και miR-142. Και τα τρία συμμετέχουν στην ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου HMGB1 (high mobility group box 1) το οποίο είναι ένα ογκογονίδιο που προκαλεί φλεγμονή και επάγει την καρκινογένεση και τη μετάσταση. Τα τρία miRNAs ρυθμίζουν αντίστροφα τη δράση του γονιδίου. Επομένως υποέκφρασή τους μπορεί να ενισχύει την έκφραση του γονιδίου HMGB1 και να οδηγήσει σε αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Επίσης έχει βρεθεί ότι αυξημένη έκφραση του γονιδίου HMGB1 αυξάνει τη χημειοαντίσταση του κυττάρου στη σισπλατίνη, αναστέλλει την απόπτωση και αυξάνει τη λεμφική μετάσταση σε ασθενείς με KTM (Chen J, 2018; Sadri Nahand, 2020).

Οι Sun et al (2016) βρήκαν και άλλα miRNAs (miR-24, miR-451, let-7a και miR-125a) που υποεκφράζονται στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και μπορούν να προκαλέσουν φλεγμονή μέσω των γονιδίων στόχων τους. Οι ερευνητές παρατήρησαν αντίστροφη σχέση μεταξύ του miR-24 και του ενζύμου YKL-40 (chitinase-3-like protein 1). Υποέκφραση του miRNA έχει ως αποτέλεσμα υπερέκφραση του ενζύμου

που επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την φλεγμονή, την εισβολή και την μετάσταση. Το miR-451, παίζει πρωταρχικό ρόλο στην ανάπτυξη και την διαφοροποίηση των κυττάρων. Μειωμένη έκφραση του miR-451 αυξάνει την έκφραση του γονιδίου στόχου και την παραγωγή της φλεγμονώδους κυτοκίνης IL-6R στα κύτταρα RKO και HeLa που προκαλεί αγγειογένεση και κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε KTM (Sun L, 2016; Sadri Nahand, 2020).



Σχήμα 3: miRNAs που υποεκφράζονται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Τα μπλε τετράγωνα απεικονίζουν τα miRNAs ενώ οι κόκκινες κουκκίδες αντιπροσωπεύουν τα γονίδια στόχους (Dwivedi S, 2021).

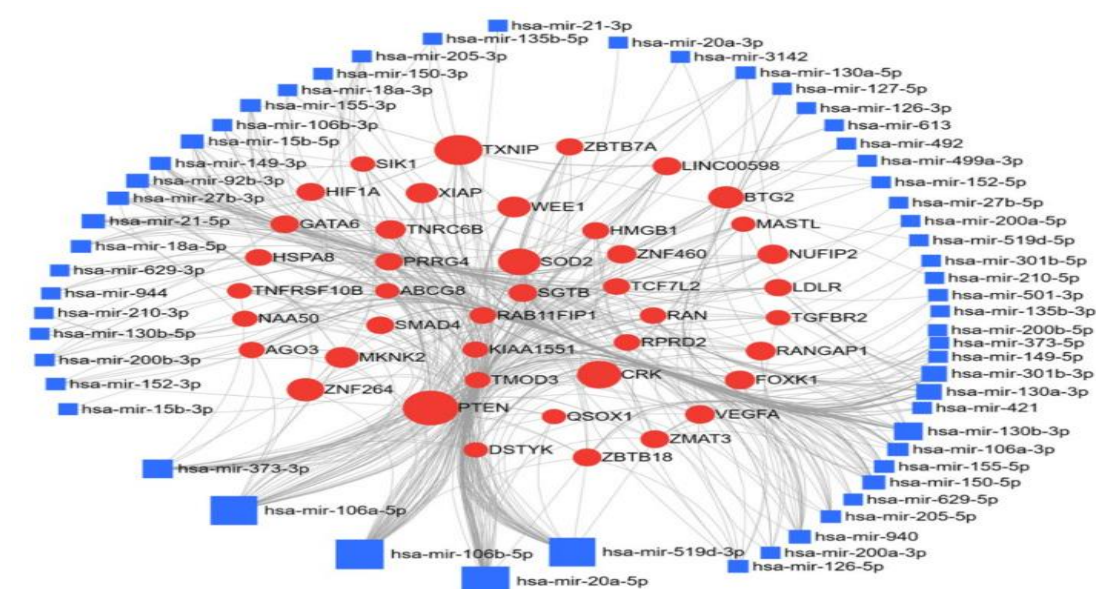
Το let-7 είναι ένα άλλο miRNA που έχει βρεθεί να έχει μειωμένη έκφραση του σε κακοήγη τραχηλικά κύτταρα καθώς και σε κυτταρικές σειρές CaSki, SiHa και HeLa. Το let-7 ρυθμίζει την έκφραση των επιπέδων STAT-3 (Signal Transducer And Activator Of Transcription 3) που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της φλεγμονής. Έχει βρεθεί ότι το ογκογονίδιο E6 του HPV μειώνει την έκφραση του let-7 και κατ' επέκταση αυξάνει τα επίπεδα STAT-3 που οδηγούν σε φλεγμονή. Οι Fan et al (2015) βρήκαν ότι στα επίπεδα STAT-3 επιδρά και το miRNA-125a. Αυτό το miRNA δρα ως ογκοκατασταλτικό καθώς προάγει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επομένως ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη. Αυτή η ρύθμιση γίνεται με την επίδραση του miRNA-125a στα σημεία ελέγχου G2/M του κυτταρικού κύκλου καθώς και στην πρόσδεση του στο ογκογονίδιο c-myc εμποδίζοντας έτσι την έκφρασή του. Ακόμη το miRNA-125a εμποδίζει την έκφραση της N-καντερίνης, των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9 που επάγουν τη φλεγμονή και εξασθενούν τους φραγμούς μεταξύ των ιστών διευκολύνοντας την εισβολή και τη μετάσταση.

Μείωση της έκφρασης του miR-125a έχει ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση της έκφρασης όλων των παραπάνω με αποτέλεσμα απορρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και φλεγμονή. Η μείωση της έκφρασης του miR-125a προκαλείται από τις ογκοπρωτεΐνες E6/E7 του υποτύπου HPV-16 και HPV-18 (Fan Z, 2015).

Τα επίπεδα STAT-3 βρέθηκε επίσης ότι ρυθμίζονται και από το miR-125b το οποίο με τη σειρά του ρυθμίζεται καθοδικά από το long-non coding SNHG12. Αύξηση της έκφρασης του Lnc-SNHG12 οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του miR-125b και επομένως σε έμμεση αύξηση των επιπέδων STAT-3 προκαλώντας προαγωγή του πολλαπλασιασμού, της φλεγμονής και της εισβολής στα κύτταρα HeLa και SiHa (Fan Z, 2015; Sadri Nahand, 2020).

miRNAs με αυξημένη έκφραση στον KTM

Οι Zhang et al (2018) σε πρόσφατη έρευνά τους ανακάλυψαν την υπερέκφραση του miR-155 σε ιστούς και στο αίμα ασθενών με KTM. Το γονίδιο στόχος του συγκεκριμένου miRNA είναι το SOSC1 το οποίο και ρυθμίζει αρνητικά. Το SOCS1 αναστέλλει οδούς όπως το STAT3 που προκαλούν φλεγμονή και προάγει τη διαφοροποίηση των κυττάρων Th17 και τη παραγωγή της κυτοκίνης IL-17. Όλη αυτή η απορρύθμιση προκαλεί αύξηση της φλεγμονής στον KTM (Zhang Y W. Z., 2018; Sadri Nahand, 2020).



Σχήμα 4 : miRNAs που υπερεκφράζονται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας : Τα μπλε τετράγωνα απεικονίζουν τα miRNAs ενώ οι κόκκινες κουκκίδες αντιπροσωπεύουν τα γονίδια στόχους (Dwivedi S, 2021).

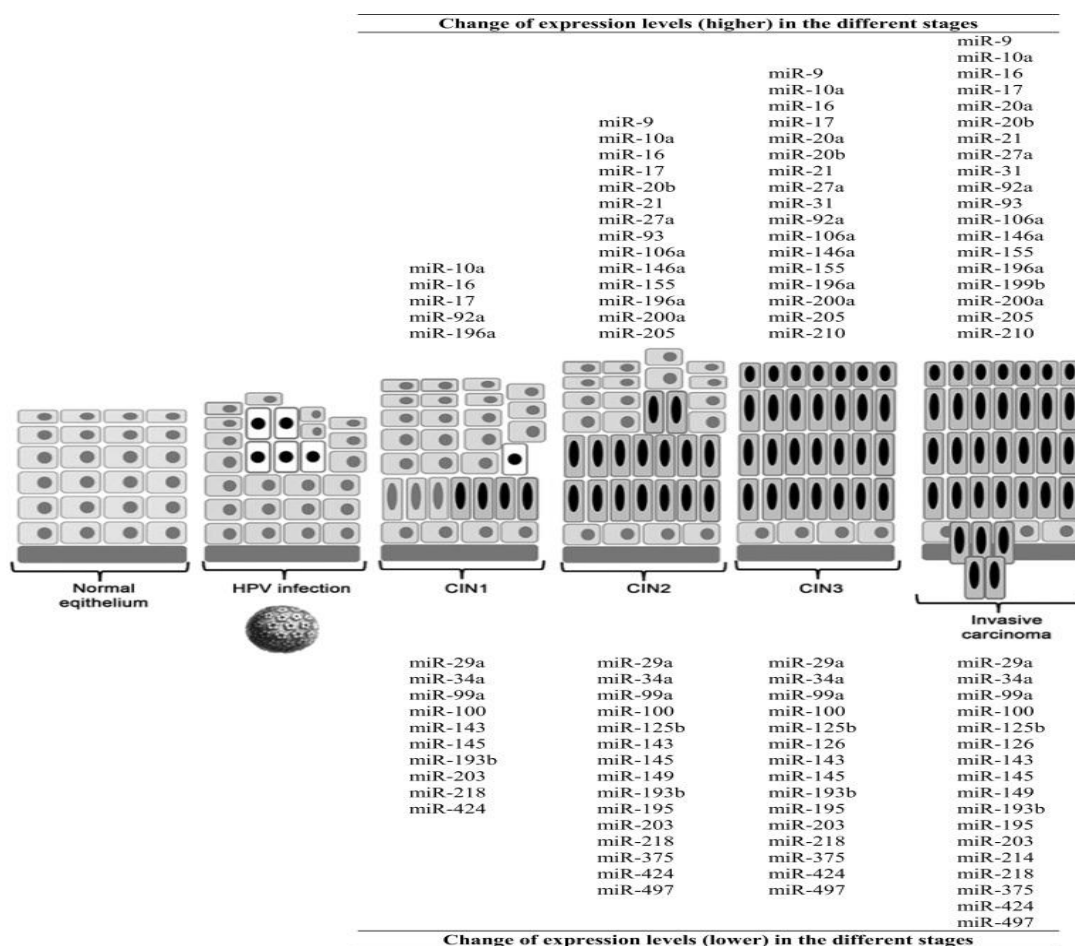
Ωστόσο πρόσφατη έρευνα έχει δείξει πως η υπερέκφραση του miR-146a μπορεί να αναστείλει τη φλεγμονή. Η υπερβολική έκφραση του miR-146a μειώνει την ενεργοποίηση του μονοπατιού NP-κΒ καθώς στοχεύει πάνω σε δύο παράγοντες τον TRAF6 (TNF receptor associated factor) και τον IRAK1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1) οι οποίοι σχετίζονται με την οξεία φλεγμονή και διατηρούν τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Μείωση της ενεργότητας τους, μέσω της υπερέκφρασης του miR-146a αναστέλλει τη φλεγμονή (Sadri Nahand, 2020).

Οι Sammarco et al (2020) δημοσίευσαν μια έκθεση στην οποία περιέγραψαν τα σημαντικότερα miRNAs και τη λειτουργία τους σε διαφορετικά στάδια της εξέλιξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Με βάση τα στοιχεία αυτά από τα miRNAs που υπερεκφράζονται στον KTM:

Τα miR-21 και miR155 ενισχύουν την μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων καθώς και την μετάσταση στους λεμφαδένες. Τα miR-20b, miR-31, miR-92a, miR-146a και miR-205 συσχετίστηκαν θετικά με το πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την μετανάστευση των κυττάρων, την εισβολή και την αγγειογένεση. Το miR-196a προκαλεί αυξημένο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, εξέλιξη της νόσου και κακή πρόβλεψη για τους ασθενείς ενώ το miR-9 βρέθηκε να έχει σημαντικά αυξημένη έκφραση στο πλακώδη καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Sammarco, 2020). Από τα miRNAs που βρέθηκαν με αυξημένη έκφραση στο KTM, οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα miR-34a και miR-214, προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετανάστευση, την εισβολή και το σχηματισμό αγγείων, το miR-143 ρυθμίζει τη μετανάστευση και την εισβολή, ενώ τα miR-145, miR-195 και miR-203 βρέθηκε ότι προάγουν τη μετάσταση στους λεμφαδένες και τη δυσμενή εξέλιξη της νόσου. Επίσης, τα miR-218 και miR-375 βρέθηκε ότι σχετίζονται με την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή, με την προαγωγή επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT) και με τις μεταστάσεις λεμφαδένων και το miR-424 ότι συσχετίζεται θετικά με εξέλιξη του όγκου, μεταστάσεις λεμφαδένων, κακή πρόγνωση και άλλες παθολογικές παραμέτρους. Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι όσο μεγαλύτερη είναι η μείωση των επιπέδων των miR-34a, miR-218, miR-375 και miR-424 τόσο αυξάνει η σοβαρότητα της νόσου (Sammarco, 2020).

Οι Pardini et al (2018) σε μια πρόσφατη μελέτη τους μελέτησαν τα miRNAs που απορρυθμίζονται κατά την εξέλιξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας από το στάδιο I της τραχηλικής νεοπλασίας (CIN1) μέχρι και την μετατροπή της νεοπλασίας σε μεταστατικό καρκίνωμα. Τα αποτελέσματα τους συνοψίζονται στο παρακάτω πίνακα όπου τα miRNAs που εμφανίζονται πάνω από το σχήμα είναι όσα ρυθμίζονται ανοδικά ενώ αυτά που βρίσκονται κάτω είναι όσα υποεκφράζονται στα διάφορα στάδια.

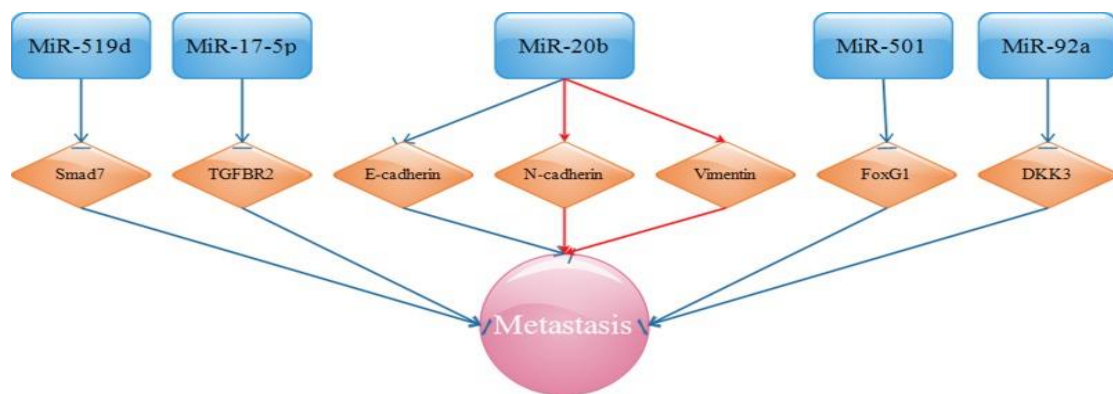
Πίνακας 8: Συσχέτιση των διαφόρων σταδίων της εξέλιξης του καρκίνου της μήτρας από λοίμωξη HPV και των σημαντικότερων miRNAs (τροποποιήθηκε από τους Pardini et al (Pardini B., 2018)).



Επίσης οι Wang et al (2019) μελέτησαν την επίδραση των miRNAs σε περιπτώσεις πρώιμης μετάστασης του πρωτογενούς όγκου. Στις περισσότερες τέτοιες περιπτώσεις υπάρχει κακή πρόγνωση και κακή θεραπευτική έκβαση. Στη μελέτη τους έδειξαν ότι στις περιπτώσεις τέτοιων μεταστάσεων τα miRNAs επηρεάζουν σηματοδοτικά

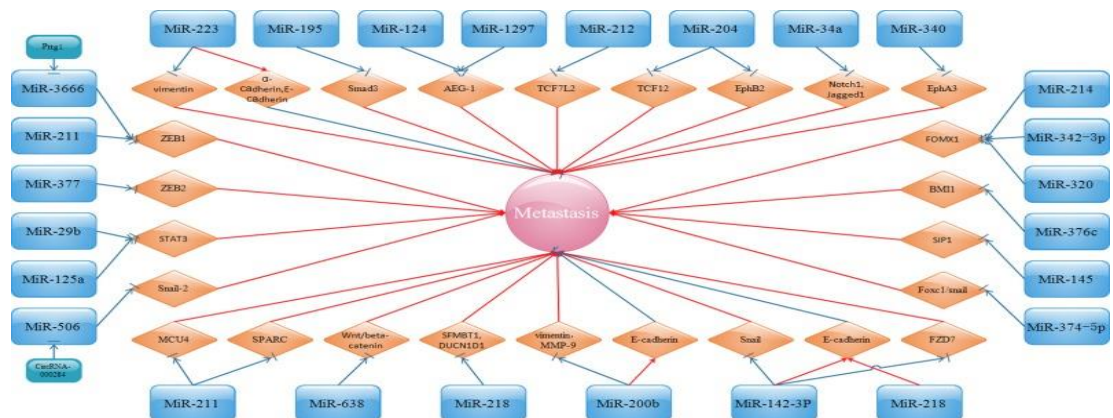
μονοπάτια όπως τα Notch, Wnt/ β -catenin, και phosphoinositide-3 kinase (PI3K)-Akt πολλά από τα οποία συμμετέχουν και στη διαδικασία EMT της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (Wang, 2019).

Η επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) είναι μια διαδικασία, ευρέως γνωστή ως φαινοτυπικός διακόπτης, με την οποία ο όγκος υιοθετεί μια μεταστατική και επεμβατική συμπεριφορά. Εκτός από τα παραπάνω μονοπάτια, στη διαδικασία EMT συμμετέχουν και παράγοντες όπως οι ZEB1 (zinc finger E-box binding homeobox 1), ZEB2, Snail1, and Snail2. Στο σχήμα 5 απεικονίζονται τα ογκογόνα miRNAs που σχετίζονται με τη συγκεκριμένη διαδικασία και τα γονίδια στόχοι τους που τελικά οδηγούν σε μετάσταση (Wang J et al, 2019).



Σχήμα 5 : Τα miRNAs, η υπερέκφραση των οποίων προωθούν τη μετανάστευση, την εισβολή και τη μετάσταση (Wang J et al, 2019).

Εκτός όμως από τα miRNAs που παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση στο ΚΤΜ, υπάρχουν και ογκοκατασταλτικά miRNAs, η μειωμένη έκφραση των οποίων επίσης μπορεί να οδηγήσει σε μεταστάσεις (Σχήμα 6).



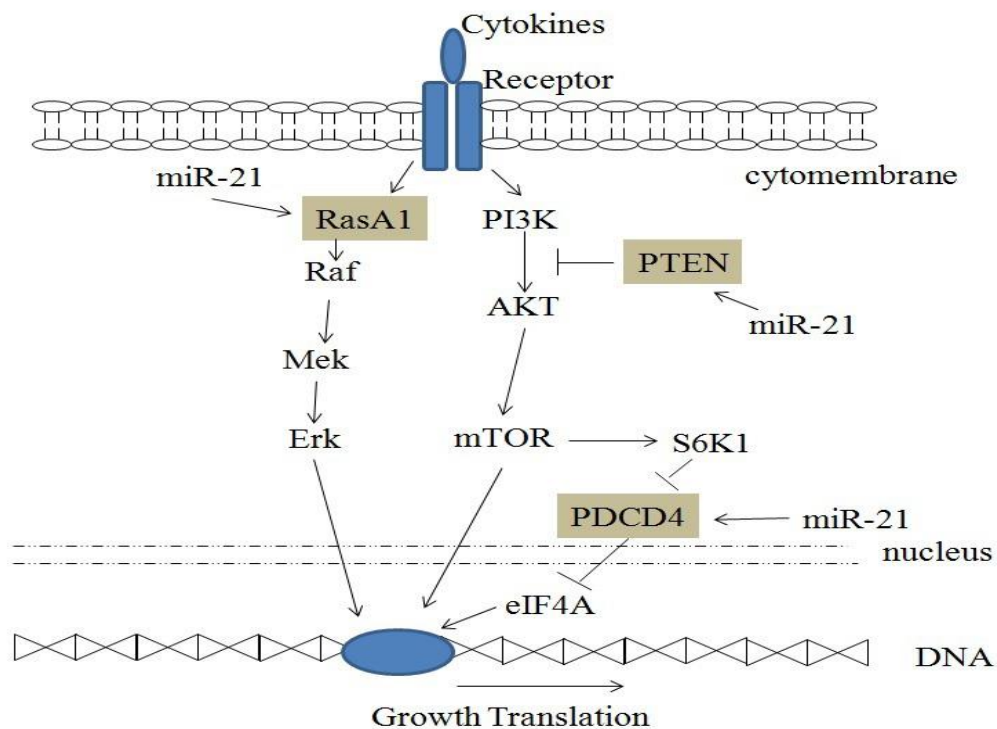
Σχήμα 6 : Ογκοκατασταλτικά miRNAs και τα γονίδια στόχοι τους στη διαδικασία EMT (Wang J et al, 2019).

III.2. Το σηματοδοτικό μονοπάτι Ras/Mek/ERK- αυξητικοί παράγοντες και ΚΤΜ

Ο καταρράκτης RAS / RAF / MEK / ERK είναι ένα σημαντικό σηματοδοτικό μονοπάτι που σχετίζεται με τη ρύθμιση πολλών κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, του κυτταρικού θανάτου, της διαφοροποίησης και την μετανάστευση. Πολλές μορφές καρκίνου, όπως ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, έχει διαπιστωθεί ότι σχετίζονται με μεταλλάξεις σε γονίδια κινασών της συγκεκριμένης οδού (Zou, 2017).

Το miR-21 και το μονοπάτι σηματοδότησης RasA1

Το KRAS είναι ένα ογκογονίδιο που εμφανίζεται συχνά μεταλλαγμένο σε διάφορους τύπους καρκίνου ενεργοποιώντας το μονοπάτι RAS / MEK /ERK, οδηγώντας σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, σε διαφυγή από την απόπτωση και σε ογκογένεση. Το KRAS κάτω από φυσιολογικές συνθήκες απενεργοποιεί την οικογένεια των Ras-GTPασών στην οποία ανήκει και η RasA1. Μελέτες σε κύτταρα έδειξαν ότι το miR-21 στοχεύει στην 3'αμετάφραστη περιοχή του RasA1. Επομένως η υπερέκφραση του miR-21 ενεργοποιεί τη διαδρομή σηματοδότησης RAS/MEK/ERK αυξάνοντας το πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Σχήμα 7) (Wang, 2019).



Σχήμα 7: Δράση του miR-21 στο σηματοδοτικό μονοπάτι RAS/MEK/ERK (Wang, 2019).

Οι Fu et al (2020) μελέτησαν την επίδραση του miR-125 που έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, στον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικός παράγοντα, VEGF (vascular endothelial growth factor). Χρησιμοποιήθηκε ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης qRT-PCR (quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction) για το προσδιορισμό της έκφρασης του miR-125 και του mRNA του παράγοντα VEGF. Επίσης χρησιμοποιήθηκε Western blotting για τον έλεγχο των επιπέδων των εμπλεκόμενων πρωτεϊνών (VEGF, E-cadherin, N-cadherin, vimentin, AKT, p-AKT, PI3K και p-PI3K). Από τη μελέτη βρέθηκε ότι σε καρκινικές σειρές καρκίνου του τραχήλου της μήτρας Caski και SiHa, το miR-125 εμφάνιζε μειωμένη έκφραση ενώ ο αυξητικός παράγοντας VEGF υπερεκφραζόταν. Σε φυσιολογικές συνθήκες το miR-125 έχει γονίδιο στόχο το VEGF και έτσι αναστέλλει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εισβολή και τη μετανάστευση, ενώ όταν υποεκφράζεται διαταράσσεται ο έλεγχος του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Fu K, 2020).

III.3. Πρωτεΐνες ενεχόμενες στην miRNA επεξεργασία κατά τη πρόοδο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Η απορρύθμιση των miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ακολουθεί την ολοκλήρωση της ενσωμάτωσης του ιού HPV στα κύτταρα. Η ενσωμάτωση των γονιδίων του ιού γίνεται συνήθως σε μεταγραφικά ενεργές περιοχές που μπορεί να περιλαμβάνουν και εσώνια και εξώνια επηρεάζοντας κωδικά και μη κωδικά γονίδια. Οι μέχρι τώρα μελέτες δείχνουν ότι μόνο μερικά miRNAs επηρεάζονται άμεσα από τις ογκοπρωτεΐνες του ιού. Οι πρωτεΐνες L2 του ιού προκαλούν μείωση της έκφρασης του miR-125b και αύξηση του DNA του HPV στα κύτταρα. Αυξομείωση της έκφρασης του miR-125b, έχει αποδειχθεί ότι αυξομειώνει αντίστοιχα και τη ποσότητα του DNA του ιού. Αυτή είναι μια πρώτη ένδειξη ότι η πρωτεΐνη L2 θα μπορούσε να ταξινομηθεί ως ογκοπρωτεΐνη του ιού (Nuono G.J., 2010). Τα επίπεδα miR-125b έχουν αποδειχθεί ότι είναι πολύ κρίσιμα για το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας από ιό HPV. Η μείωση της έκφρασής του πιθανώς οφείλεται σε σίγαση του DNA και μεθυλίωση των ιστονών που προκαλείται από τις ογκοπρωτεΐνες του ιού. Επίσης έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη E5 του υποτύπου HPV-16 αυξάνει την έκφραση του miR-146a ενώ μειώνει την έκφραση των miR-324-5p και miR-203. Η έκφραση του miR-146a είναι πολύ σημαντική στη ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας καθώς προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ο πολυμορφισμός G > C (rs2910164) βρίσκεται στο σκέλος του πρόδρομου miR-146a, το οποίο θα μπορούσε να αλλάξει την ώριμη έκφραση του miR-146a. Υπήρξε η υπόθεση ότι υπάρχει πιθανή συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών γονιδίου miR-146a και κινδύνου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε μια μελέτη ελέγχου σε πληθυσμούς γυναικών που κατοικούν στην επαρχία Τζιανγκσού (Yue et al, 2011).

SNPs του αλληλόμορφου G του miR-146a G αυξάνει δραστικά τον κίνδυνο καρκίνου καθώς το SNP μεταβάλλει την ωρίμανση του miR-146a (Granados López, 2014).

Η πρωτεΐνη E6 του High Risk υποτύπου του ιού μειώνει την έκφραση του miR-218 πολύ περισσότερο από ότι σε ασθενείς που είχαν μολυνθεί από ιό χαμηλού ή μεσαίου κινδύνου. Επίσης τα επίπεδα του miR-218 μειώνονται όλο και περισσότερο καθώς η ασθένεια εξελίσσεται και μετατρέπεται σε μεταστατική. Ως εκ τούτου φαίνεται ότι η ρύθμιση του miR-218 σχετίζεται με τη παθογένεση και τη πρόοδο της ασθένειας (Granados López, 2014).

Σε κύτταρα που εκφράζεται η E6 πρωτεΐνη του ιού φαίνεται να μην εκφράζεται καθόλου η πρωτεΐνη p53. Η πρωτεΐνη αυτή έχει εξαιρετικά πολύπλοκο ρόλο καθώς έχει βρεθεί ότι καταστέλλει ή ενεργοποιεί κωδικά και μη κωδικά γονίδια τόσο στο επίπεδο της μεταγραφής όσο και της βιογένεσης τους. Η p 53 προσδένεται σε πολλούς υποκινητές miRNAs προκαλώντας έτσι τη καταστολή τους. Υπάρχουν πάρα πολλά τέτοια miRNAs όπως τα miR-106b, miR-93, miR-25, και miR-17-5p, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1, και miR-106a, miR-18b, miR-20b, miR-19-2 και miR-92-2. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι όλα τα miRNAs που ρυθμίζονται μέσω της p53 θα επηρεαστούν από την E6 του ιού (Granados López, 2014; Wang et al, 2009; Xu et al, 2012; Yeung et al, 2011; Greco et al, 2011)

Ακόμη η πρωτεΐνη E7 του ιού επηρεάζει τον μεταγραφικό παράγοντα E2F και αυτή η επίδραση αναμένεται να επηρεάζει την έκφραση αρκετών miRNAs. Για παράδειγμα οι θέσεις πρόσδεσης για τους μεταγραφικούς παράγοντες E2F1 και E2F3 βρέθηκαν στον υποκινητή του miR-15b. Επίσης ο E2F επάγει την μεταγραφή των miR-17-92, let-7a, let7-I, miR-15 και miR-106b. Ένα άλλο miRNA που η έκφρασή του επηρεάζεται προς τα κάτω από την E7 είναι το miR-203. Το miR-203 έχει στόχο το p53, ένα μεταγραφικό ρυθμιστή που εμπλέκεται στην καρκινογένεση, αναστέλλοντας την παραγωγή πρωτεϊνών. Συμπερασματικά οι ογκοπρωτεΐνες του ιού επηρεάζουν την έκφραση πολλών γονιδίων που ρυθμίζουν πολλές κυτταρικές λειτουργίες. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τη κατανόηση αυτών των πολύπλοκων διεργασιών που θα μπορούσαν να αποκαλύψουν τα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και να οδηγήσουν σε κατάλληλους τρόπους για την αποκοπή της εξέλιξής του (Granados López, 2014).

Οι Shen et al (2020) σε πρόσφατο άρθρο τους περιέγραψαν την επίδραση των πρωτεϊνών του ιού HPV στα επίπεδα των συμπλεγμάτων DROSHA και DGCR8 που αποτελούν βασικά συστατικά του μικροεπεξεργαστή που συμμετέχει στη βιοσύνθεση των miRNAs. Έχει βρεθεί ότι οι ογκοπρωτεΐνες E6 και E7 οδηγούν σε αυξημένη συγκέντρωση του συμπλόκου DROSHA σε μολυσμένα κύτταρα σε σχέση με φυσιολογικά και αυτό με τη σειρά του οδηγεί σε ανώμαλη παραγωγή miRNAs μετατρέποντας τα κύτταρα σε καρκινικά. Επίσης η E7 έχει αποδειχθεί μέσω της αύξησης της συγκέντρωσης της DGCR8 οδηγεί σε υπερέκφραση του miR-27b με αποτέλεσμα ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αποφυγή απόπτωσης (Shen S, 2020).

Ο υπότυπος HPV-16 έχει βρεθεί επίσης ότι προκαλεί αυξημένη συγκέντρωση της DICER και των πρωτεϊνών AGO2 (συστατικό του σιγαστικού συμπλέγματος RISC), επηρεάζοντας έτσι όλο το μηχανισμό βιογένεσης των miRNAs και οδηγώντας σε καρκινογένεση (Shen S, 2020).

III.4. Διάγνωση του καρκίνου της μήτρας μέσω χρήσης microRNAs

Αρχικά είχε θεωρηθεί ότι τα miRNAs δεν μπορούν να ανιχνευθούν στον ορό του αίματος καθώς είχαν θεωρηθεί ότι ήταν ασταθή όταν έμπαιναν στη κυκλοφορία του αίματος λόγω της δράσης των RNAασών που προκαλούσαν την αποικοδόμησή τους. Ωστόσο αργότερα βρέθηκε ότι miRNAs κυκλοφορούσαν στο αίμα είτε μέσα σε κυστίδια είτε σε εξωσωμάτια. Μελέτες έδειξαν ότι και στον ορό υπήρχαν αυξημένες συγκεντρώσεις των miRNAs που εμφανίζονταν αυξημένα και μέσα στα καρκινικά κύτταρα σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καταδεικνύοντας ότι τα επίπεδα των miRNAs στον ορό μπορούν να λειτουργήσουν ως βιοδείκτες για τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Τέτοια miRNAs που έχουν αξιοσημείωτη υψηλή έκφραση στα καρκινικά κύτταρα είναι τα miR-21, miR-27a, miR-34, miR-34a και miR-196a (Shen S, 2020).

Οι Farzanehpour et al (2019) μελέτησαν τα επίπεδα έκφρασης miRNAs σε ιστούς και στον ορό του αίματος. Χρησιμοποίησαν 36 φυσιολογικά δείγματα, 18 προκαρκινικά και 18 καρκινικά δείγματα και χρησιμοποιώντας RT-PCR μελέτησαν την έκφραση των miR-9, miR-192 και miR-205.

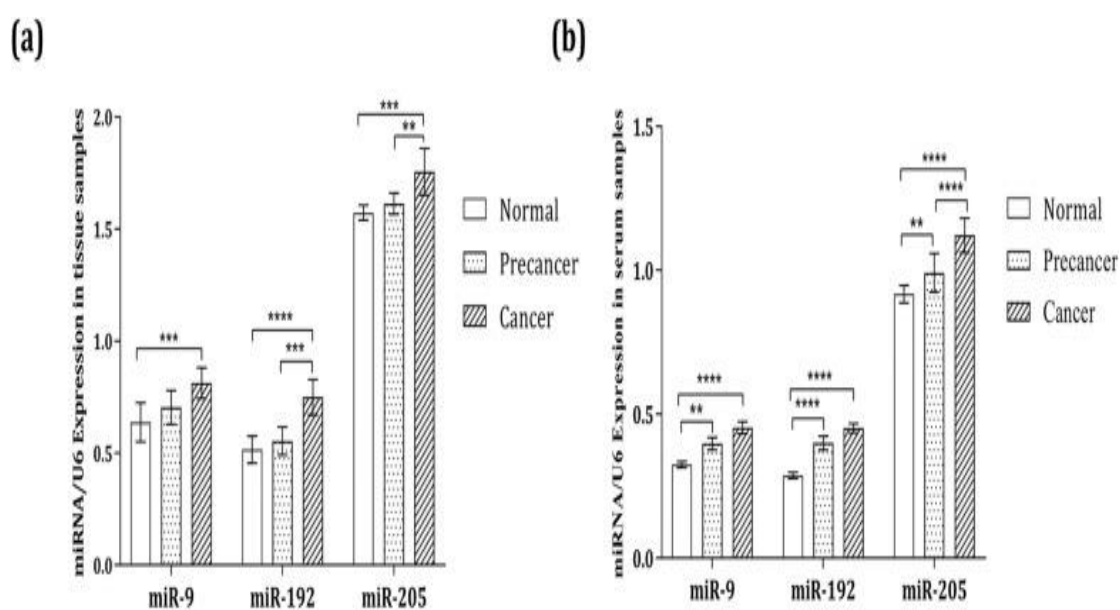
Η υπερέκφραση του miR-9 μπορεί να οδηγήσει σε EMT (επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση) καθώς επηρεάζει τα γονίδια c-Myc και PROX1 και προωθεί τη μετάσταση καθώς ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου KLF17. Επίσης, μειώνει σημαντικά την E-καντερίνη και αυξάνει την βιμεντίνη προκαλώντας αυξημένη κινητικότητα των κυττάρων και προάγοντας την εισβολή (Farzanehpour M et al, 2019).

Το miR-192 έχει βιολογικές επιπτώσεις που είναι καλά μελετημένες. Αυξάνει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων και μειώνει την κυτταρική απόπτωση και τη μετάβαση των κυττάρων από τα στάδια G0 / G1 στη φάση S, προκαλώντας ογκογένεση. Έχει βρεθεί σε πολλούς καρκίνους, όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου, ο καρκίνος του πνεύμονα, του στομάχου κ.ά. (Farzanehpour M et al, 2019).

Το miR-205 είναι ένα άλλο miRNA που εμφανίζεται απορυθμισμένο σε καρκινικές καταστάσεις και άλλοτε δρα ως ογκοκατασταλτικό και άλλοτε ως ογκογόνο ανάλογα με το γονίδιο στόχο. Στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας λειτουργεί ως ογκογόνο καθώς η υπερέκφραση του αυξάνει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων στοχεύοντας στα γονίδια CYR61 και CTGF.

Για τη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα, ειδικά σε πρώιμο στάδιο, το miR-205 που κυκλοφορεί στον ορό αναφέρθηκε ως βιολογικός δείκτης (Farzanehpour M et al, 2019).

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικά υψηλότερες εκφράσεις των miR-9, miR-192 και miR-205 στον ιστό των δειγμάτων καρκίνου από αυτές στα κανονικά δείγματα. Επιπλέον, η έκφραση miR-192 και miR-205 αυξήθηκε σημαντικά στην καρκινική ομάδα σε σύγκριση με την προκαρκινική ομάδα. (Σχήμα 8). Η ανάλυση καμπύλης ROC έδειξε την υψηλότερη περιοχή κάτω από την τιμή καμπύλης για το miR-192.



Σχήμα 8: Σχετικά επίπεδα έκφρασης miR-9, miR-192 και miR-205 μεταξύ καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, προκαρκινικών και φυσιολογικών ομάδων στα (α) δείγματα ιστού και (β) ορού (Farzanehpour M et al, 2019).

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων στους ιστούς και στον ορό και την ανάλυση της καμπύλης ROC διαφαίνεται ότι το miR-192 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δυνητικός βιοδείκτης για την έγκαιρη ανίχνευση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (Farzanehpour M et al, 2019).

Οι Yu et al (2021) μελέτησαν επίσης την διαγνωστική αξία της μέτρησης της έκφρασης των miRNA-145 (miR-145) και miRNA-205 (miR-205) σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Έλαβαν 144 δείγματα από τα οποία επιβεβαιώθηκε ότι 84 ασθενείς έπασχαν από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και 60 εμφάνιζαν ενδοθηλιακή νεοπλασία του τραχήλου. Επίσης επιλέχθηκαν και 30 ασθενείς με τραχηλίτιδα και μετρήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης των miRNA-145, miRNA-205 και του ιού HPV τόσο σε φυσιολογικό τραχηλικό ιστό όσο και σε τραχηλικές βλάβες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις ομάδες που έπασχαν από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας το επίπεδο έκφρασης του miR-145 ήταν σημαντικά χαμηλότερο ενώ το επίπεδο έκφρασης του miR-205 ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με τις υγιείς ομάδες ή με τις ομάδες με τραχηλίτιδα ή τραχηλική νεοπλασία. Μεταξύ όλων των ασθενών, το σχετικό επίπεδο έκφρασης του miR-145 ήταν σημαντικά χαμηλότερο, ενώ το σχετικό επίπεδο έκφρασης του miR-205 ήταν σημαντικά υψηλότερο σε HPV θετικούς ασθενείς σε σχέση με τους αρνητικούς ασθενείς. Συμπερασματικά η υποέκφραση του miR-145 και η υπερέκφραση του miR-205 σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας καθώς έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με τη μόλυνση από τον HPV και τη κακοήθεια (Yu F, 2021).

Άλλος ένας διαγνωστικός δείκτης για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι το μοτίβο της μεθυλίωσης των miRNAs. Έχει βρεθεί ότι στα καρκινικά κύτταρα, το miR-124 παρουσιάζει αυξημένη μεθυλίωση η οποία μπορεί να μετρηθεί με MS-PCR (methylation-specific PCR) και ανάλυση COBRA (combined bisulfite restriction analysis). Έτσι η μέτρηση της μεθυλίωσης μπορεί να είναι ένας δείκτης για τη διάγνωση της ασθένειας σε πολύ αρχικό στάδιο. Επίσης υπερμεθυλίωση έχει βρεθεί και σε άλλα miRNAs όπως το miR-149, miR-203 και miR-375, τα οποία μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες. Από τους ερευνητές προτείνεται ότι η μέτρηση της μεθυλίωσης σε συνδυασμό με την ανώμαλη έκφραση miRNAs μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική για τη διάγνωση των διαφόρων σταδίων του KTM (Shen S, 2020).

III.5. Μηχανισμός προαγωγής της μεθυλίωσης μέσω miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Η μεθυλίωση του DNA είναι μία από τις σημαντικότερες επιγενετικές διαμορφώσεις που συμβαίνουν στα θηλαστικά και επιτελεί σημαντική λειτουργία στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Η μεθυλίωση συμβαίνει συνήθως στους υποκινητές γονιδίων και προκαλεί την σίγαση τους δηλαδή την αναστολή της μεταγραφής τους και κατά συνέπεια της μετάφρασης τους. Η απουσία μεθυλίωσης DNA, ιδιαίτερα η μεθυλίωση των νησίδων CpG σε περιοχές υποκινητών γονιδίων, είναι ένα πρότυπο που εμφανίζεται συχνά σε διάφορους τύπους καρκίνου όπως και στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και είναι ένδειξη κακοήθειας. Ένα καλά μελετημένο παράδειγμα ανώμαλης μεθυλίωσης είναι το γονίδιο P16. Το P16 είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο και η μεθυλίωση του υποκινητή του οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του και στην πρόοδο και την εξέλιξη του καρκίνου της μήτρας. Για το λόγο αυτό η μεθυλίωση του υποκινητή του p16 θεωρείται δυνητικός θεραπευτικός και διαγνωστικός στόχος. Οι αλλαγές της μεθυλίωσης του DNA ελέγχονται από τα ένζυμα μεθυλοτρανφεράσες (DNMTs). Στα θηλαστικά έχουν μελετηθεί και ταυτοποιηθεί τρεις DNMTs (DNMT1, DNMT3A και DNMT3B). Ο ρόλος της DNMT1 είναι να διατηρεί το πρότυπο, ενώ οι DNMT3A και DNMT3B είναι υπεύθυνες για την μεθυλίωση του DNA de novo. Παλιότερες έρευνες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα DNMT1, DNMT3A και DNMT3B σε διάφορους όγκους όπως στο καρκίνο του ήπατος, του μαστού, του προστάτη και του παχέος εντέρου. Πρόσφατα η υπερβολική έκφραση της DNMT1 αναφέρθηκε και στον KTM και σχετίστηκε με κακή έκβαση επιβίωσης. Η αναστολή των DNMTs μπορεί να ενεργοποιήσει εκ νέου την έκφραση των σιγασμένων λόγω μεθυλίωσης ογκοκατασταλτικών γονιδίων σε κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (Wang A, 2021).

Τα επίπεδα miR-29a εμφανίζονται μειωμένα σε ιστούς και καρκινικά κύτταρα σε περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και συνδέονται αρνητικά με την υπερμεθυλίωση του υποκινητή του p16.

Οι Wang et al (2021) μελέτησαν με τη χρήση RT-qPCR την έκφραση του miR-29a σε 40 καρκινικούς ιστούς και τους συνέκριναν με την αντίστοιχη έκφραση σε φυσιολογικούς ιστούς του μητρικού τραχήλου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκφραση miR-29a ήταν σημαντικά μειωμένη στους καρκινικούς ιστούς και σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (HeLa και C-33A) σε σύγκριση

με την κανονική κυτταρική γραμμή του τραχήλου της μήτρας. Η υπερμεθυλίωση του p16 εμφανίστηκε στο 62,5% των καρκινικών ιστών (25/40) και στις καρκινικές σειρές HeLa και C-33A σε σύγκριση με τα φυσιολογικά κύτταρα. Επίσης τα επίπεδα του miR-29a ήταν υψηλότερα στην μη μεθυλιωμένη ομάδα p16 από την ομάδα μεθυλιωμένης p16 δείχνοντας ότι το miR-29a φαίνεται να σχετίζεται με την κατάσταση μεθυλίωσης του p16 στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Wang A, 2021).

Το miR-29a αναστέλλει την έκφραση DNMT3A και DNMT3B στοχεύοντας απευθείας τα 3'-αμετάφραστα άκρα τους.

Χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων TargetScanHuman 7.2, βρέθηκε ότι οι αλληλουχίες του miR-29a εμφανίζουν συμπληρωματικότητα με τις 3'-αμετάφραστες περιοχές των γονιδίων DNMT3A και DNMT3B. Για να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση του miR-29a με τις 3' αμετάφραστες περιοχές των DNMT3A και DNMT3B, αυτές οι περιοχές κλωνοποιήθηκαν σε ένα πλασμίδιο pGL3. Επίσης κατασκευάστηκαν και αντίστοιχες εκδόσεις με μεταλλαγμένη τη θέση σύνδεσης και χρησιμοποιήθηκαν μιμητικά miRNAs για επιμόλυνση σε κύτταρα HeLa. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά από την υπερέκφραση του miR-29a μειώνεται η έκφραση των DNMT3A και DNMT3B και επανενεργοποιείται το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p16. Συλλογικά, αυτά τα πειράματα αποδεικνύουν ότι το miR-29a μειώνει την έκφραση του mRNA των DNMT3A και DNMT3B στοχεύοντας απευθείας στα 3'-αμετάφραστα άκρα τους (Wang A, 2021).

Οι Liu J et al (2020) σε παλιότερη μελέτη τους έδειξαν ότι υπερέκφραση της απομεθυλάσης KDM2A προάγει το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καθώς αναστέλλει τη λειτουργία του miR-132. Σε νεότερη μελέτη τους το 2020 εξέτασαν την έκφραση 48 ρυθμιστών της μεθυλίωσης ιστονών μετά από την επίδραση των ογκόπρωτεϊνών E6 και E7 του ιού HPV 16 σε κύτταρα CaSki. Βρέθηκε ότι η έκφραση της KDM5A είναι απορυθμισμένη και η επίδραση της στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας διερευνήθηκε τόσο in vivo όσο και in vitro. Η προκαλούμενη από την ογκοπρωτεΐνη E7 υπερέκφραση της KDM5A προκάλεσε κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διεισδυτικότητα in vitro και in vivo, η οποία συνδέθηκε με κακή εξέλιξη σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η KDM5A αλληλεπιδρά φυσικά με την περιοχή του υποκινητή του miR-424-5p και καταστέλλει την έκφρασή του απομακρύνοντας τρι- και δι-μεθυλομάδες από το H3K4. Το miR-424-5p καταστέλλει

το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων στοχεύοντας το ογκοκατασταλτικό Suz12. Η υπερέκφραση της KDM5A καταστέλλει το miR-424-5p, το οποίο είχε ως αποτέλεσμα μείωση του Suz12. Επομένως, η KDM5A λειτουργεί ως ενεργοποιητής όγκου στην παθογένεση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αναστέλλοντας τη κατασταλτική λειτουργία του miR-424-5p. Επομένως η απομεθυλάση KDM5A θα μπορούσε να είναι ένας χρήσιμος προγνωστικός βιοδείκτης και θεραπευτικός στόχος για την κλινική αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (Liu J, 2020).

IV. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

IV.1 Γενικά

Η μελέτη και ο προσδιορισμός των miRNAs που σχετίζονται με το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας λόγω της μόλυνσης με τον ιό HPV είναι πολύ σημαντικός καθώς τα miRNAs αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την έγκαιρη ανίχνευση της ασθένειας αλλά και ως μέσα για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών ή εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Η μεγάλη πλειοψηφία των καρκίνων των σχετιζόμενων με HPV εμφανίζουν ανώμαλη έκφραση των miRNAs που μπορεί να μετρηθεί στα σωματικά υγρά ή στους ιστούς. Οι συνεχώς αυξανόμενες γνώσεις σχετικά με την έκφραση των miRNAs και την επίδραση τους πάνω στα γονίδια στόχους είναι πολύ σημαντικές για την ανάπτυξη θεραπευτικών προσεγγίσεων. Για την αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν θεραπείες κατά των miRNAs ή θεραπείες αντικατάστασης των miRNAs ανάλογα με την ανιχνευόμενη βλάβη (Sadri Nahand, 2020).

Ορισμένα miRNAs διαθέτουν ογκοκατασταλτική δράση όπως το miR-34a το οποίο με τη φυσιολογική του έκφραση εμποδίζει τον ογκογονικό μετασχηματισμό. Σε περίπτωση υποέκφρασής του, όπως συμβαίνει στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας που προκαλείται από HPV, έχουμε αύξηση της επιβίωσης των μη φυσιολογικά μετασχηματισμένων κυττάρων και διακοπή της φάσης του κυτταρικού κύκλου G1/G2.

Επίσης πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η υποέκφραση του miR-34a και του miR-125 αυξάνει τη διεισδυτικότητα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Έτσι μια πιθανή θεραπευτική προσέγγιση θα μπορούσε να είναι η αντικατάσταση του miR-34a. Αυτό μπορεί να γίνει με τη χορήγηση μιμητικών miRNAs που μπορούν να ισορροπήσουν την έλλειψη της ογκοκατασταλτικής ιδιότητας ή να επαναφέρουν τη σωστή ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Ωστόσο, με τις έως τώρα μελέτες, πολύ λίγα ογκοκατασταλτικά miRNAs (όπως τα miR-34a, miR-143 και miR-14593) έχουν προταθεί για θεραπευτική χρήση. Τα βασικά προβλήματα είναι ότι απαιτείται ένας αποτελεσματικό φορέας του miRNA και η ύπαρξη αλληλεπιδράσεων του παρεχόμενου miRNA σε μη ειδικές περιοχές ή σε περιοχές εκτός στόχου που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Sadri Nahand, 2020).

Όπως και στη περίπτωση της συμβατικής γονιδιακής θεραπείας, έτσι και στη περίπτωση παροχής miRNAs-αντικαταστατών απαιτείται ένα αποτελεσματικό σύστημα-φορέας. Ως φορέας παροχής γονιδίων έχουν προταθεί τα νανοσωματίδια (NPs), τα οποία μπορούν να χορηγηθούν με ένεση στη περιοχή του όγκου ή συστηματικά μέσω παρεντερικής κυκλοφορίας. Οι Wiggins et al (2010) χρησιμοποιώντας μοντέλα ποντικών κατέληξαν ότι υπήρξε επιτυχημένη παράδοση μιμητικών miR-34a με τη χρήση νανοσωματιδίων που δημιουργήθηκαν από τη σύζευξη τροποποιημένου GC4 μονοκλωνικού αντισώματος με πολυκατιονικά μόρια λιποσώματος-υαλουρονικού οξέος (Wiggins JF, 2010). Αυτή η τεχνική αντικατάστασης miRNAs θα μπορούσε να είναι μια θεραπευτική προσέγγιση για τη θεραπεία των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας που οφείλεται σε HPV (Sadri Nahand, 2020).

Οι Konishi et al (2020) μελέτησαν την επίδραση εξωσωμάτων πλούσιων σε miR-22 σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου της μήτρας καθώς και το ρόλο του εξωσωματικού miR-22 στη χημειοευαισθησία των καρκινικών κυττάρων. Το miR-22 είναι ένα miRNA που υποεκφράζεται σε πολλούς καρκίνους, όπως και στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Τα εξωσωμάτια είναι μικρά εκκριτικά κυστίδια που περιέχουν συστατικά όπως πρωτεΐνες, mRNAs, DNA και miRNAs. Οι ερευνητές απομόνωσαν εξωσωμάτια με υψηλή περιεκτικότητα σε miR-22 μέσω κατάλληλων τεχνικών όπως (υπερφυγοκέντρηση, Western blotting, και RT-PCR) και στη συνέχεια ενσωμάτωσαν τα εξωσωμάτια αυτά σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου της μήτρας SKG-II και C4-I. Παρατηρήθηκε ότι το επίπεδο του miR-22 αυξήθηκε σημαντικά, γεγονός που υποδηλώνει την απορρόφηση του εξωσωματικού miR-22. Επίσης μετρήθηκε μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης c-Myc (MYCBP) και της αντίστροφης μεταγραφάσης της ανθρώπινης τελομεράσης (hTERT) που σχετίζονται με αυξημένη ραδιοευαισθησία. Συμπερασματικά, αυτές οι μελέτες καταλήγουν ότι η χορήγηση του εξωσωματικού miR-22 μπορεί να είναι ένα πιθανό φάρμακο που αυξάνει τη χημειοευαισθησία στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Konishi H, 2020).

IV.2 MicroRNAs και αντίσταση στη χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Σήμερα, η τυπική θεραπευτική προσέγγιση για τον τοπικά προχωρημένο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ή τους υποτροπιάζοντες καρκίνους είναι η σισπλατίνη, ένας χημειοθεραπευτικός παράγοντας, με βάση τη πλατίνα, που πολλές φορές συνδυάζεται με ακτινοθεραπεία ή άλλα φάρμακα. Ωστόσο, έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα ανθεκτικότητας στα φάρμακα, την ακτινοθεραπεία και τη ραδιοθεραπεία που οδηγούν σε μείωση του προσδόκιμου ζωής των ασθενών με ΚΤΜ. Οι μηχανισμοί που προκαλούν ανθεκτικότητα είναι εξαιρετικά πολύπλοκοι και έχει διαπιστωθεί ότι σε αυτούς τα miRNAs παίζουν βασικό ρόλο. Τα δεδομένα δείχνουν ότι η απορρύθμιση της έκφρασης πολλών miRNAs προκαλούν αντίσταση στην ακτινοθεραπεία και αντίσταση στα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και για αυτό αποτελούν αντικείμενο συστηματικής έρευνας (Masadah, 2021).

Η αντικαρκινική δράση της σισπλατίνης πραγματοποιείται μέσω πολλών μοριακών μηχανισμών που περιλαμβάνουν σηματοδοτήσεις που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Η σισπλατίνη προσδένεται πάνω στο DNA προκαλώντας βλάβες στη χημική του δομή. Όταν οι βλάβες αυτές καθιστούν πλέον το κύτταρο μη βιώσιμο, τότε αυτό οδηγείται σε κυτταρικό θάνατο και απόπτωση. Επίσης η σισπλατίνη καταστρέφει τα λυσοσώματα των κυττάρων, τα οποία απελευθερώνουν το πρωτεολυτικό τους περιεχόμενο προκαλώντας λύση των κυττάρων, υποβαθμίζει το ενδοπλασματικό δίκτυο προκαλώντας προβλήματα στην αποθήκευση του ασβεστίου και τις αναδιπλώσεις των πρωτεϊνών και ακόμη μπορεί να προσδεθεί σε πρωτεΐνες όπως η τουμπουλίνη, η αναγωγή της θειορεδοξίνης (TrxR) και η πρωτεΐνη NHE ανταλλαγής ιόντων Na/H προκαλώντας τροποποιήσεις στη λειτουργία τους (Makovec T, 2019; Masadah, 2021).

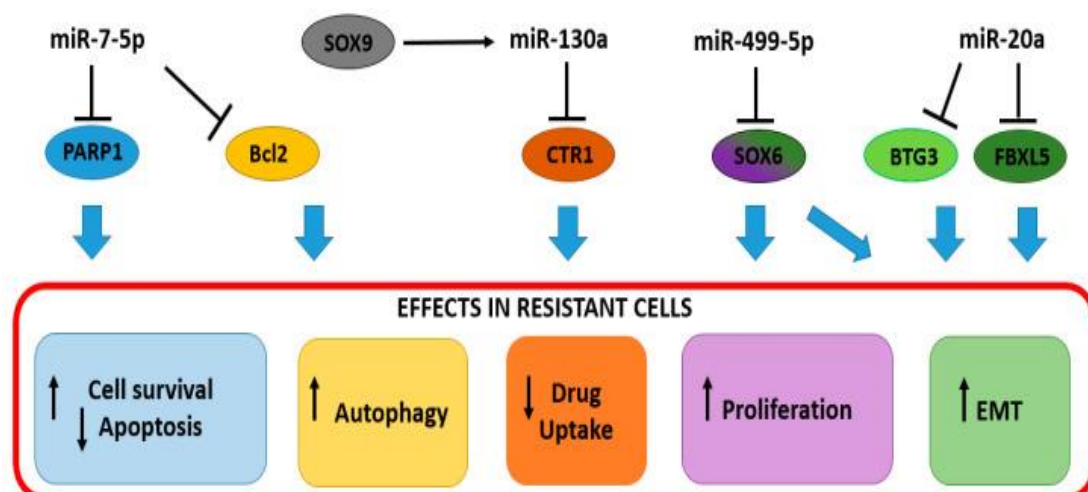
Παρά το γεγονός ότι η σισπλατίνη βλάπτει τα καρκινικά κύτταρα με πολλούς τρόπους, αναπτύσσεται πολλές φορές εγγενής ή επίκτητη αντίσταση, η οποία μειώνει την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου στη κλινική πρακτική. Τα καρκινικά κύτταρα στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας αποκτούν επίσης ανθεκτικότητα στο φάρμακο και τα τελευταία 30 χρόνια έχουν γίνει πολλές μελέτες για την διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που προκαλούν αυτή την ανθεκτικότητα. Οι βασικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν μείωση της ενδοκυτταρικής συσσώρευσης, αύξηση της ενεργοποίησης ή των μεταβολών στους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς των βλαβών του DNA,

μεταβολές στο κύκλο ρύθμισης του κυτταρικού θανάτου, ενεργοποίηση της EMT (επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης) καθώς και μεταβολές στα μοτίβα μεθυλίωσης του DNA (Ghosh S, 2019). Μελέτες έχουν δείξει ότι τα καρκινικά βλαστοκύτταρα παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στο φάρμακο. Παρουσιάζουν αντίσταση σε πολλά φάρμακα, καθώς εκφράζουν μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών που επάγουν φαρμακοαντίσταση όπως την MDR1/P-gp/ABCB1 (multidrug resistance protein 1), την MXR (mitoxantrone resistance protein), την BCRP-1 (cancer breast resistance protein-1). Επίσης αποδείχθηκε ότι σε βλαστικά καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας υπάρχει υψηλή ενεργότητα του ενζύμου αφυδρογονάση της αλδεΰδης (ALDH), που σχετίστηκε με αυξημένη ανθεκτικότητα των κυττάρων σε σισπλατίνη. Σε αυτή την αντίσταση των κυττάρων έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο, μη κωδικά μόρια RNAs όπως snRNAs και microRNAs (miRNAs), (Jing L, 2019; Masadah, 2021).

Το 2012 πραγματοποιήθηκαν οι πρώτες μελέτες σχετικά με τον ρόλο των miRNAs στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας απέναντι σε φάρμακα στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και διαπιστώθηκε ότι το miR-145 το οποίο ρυθμίζει το σηματοδοτικό μονοπάτι IGF επηρέασε την αντοχή των καρκινικών κυττάρων στη μιτομυκίνη, ένα αντικαρκινικό φάρμακο (Shi M, 2012). Οι Fekete et al (2020) σε μια πρόσφατη μελέτη τους εντόπισαν τρία miRNAs (miR-342, miR-378c και miR-155) που παρουσίαζαν διαφορετικά πρότυπα έκφρασης ανάμεσα σε ασθενείς που ανταποκρίνονταν στη θεραπεία και σε αυτούς που δεν ανταποκρίνονταν υποδηλώνοντας ότι αυτά τα miRNAs διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στη σισπλατίνη (Fekete J T, 2020; Masadah, 2021).

Τα miRNAs που έχουν αυξημένη έκφραση στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καθορίζουν την αντίσταση στη σισπλατίνη

Τα miRNAs παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο φάρμακο, κυρίως λόγω της δράσης τους ως μετά-μεταγραφικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Ένα miRNA που η υπερέκφραση του έχει συνδεθεί με την αποτυχία της θεραπείας είναι το miR-7-5p, το οποίο βρέθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις σε καρκινικά κύτταρα HeLa και SiHa με επίκτητη ανθεκτικότητα σε σισπλατίνη. Σε αυτά τα κύτταρα, το miR-7-5p έχει βρεθεί ότι έχει διττό ρόλο επηρεάζοντας τόσο την πολυ ADP-ριβόζη πολυμεράση 1 (PARP-1) όσο και το BCL2 (B-cell lymphoma 2). Από τη μια πλευρά καταστέλλει την PARP-1 εμποδίζοντας έτσι τον κυτταρικό θάνατο των ανθεκτικών κυττάρων και από την άλλη η υπορύθμιση του BCL2 εξασφαλίζει την απαιτούμενη ενέργεια του κυττάρου μέσω μιας αυτοφαγικής διεργασίας. Στα μη ανθεκτικά κύτταρα, οι πολλαπλές βλάβες του DNA απαιτούν υψηλή ενέργεια για την επιδιόρθωση, η οποία δεν υπάρχει και έτσι τα κύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση. Η υπερέκφραση του miR-7-5p όχι μόνο βοηθά τα κύτταρα να αποφεύγουν την απόπτωση αλλά διατηρούν και ένα μέτριο επίπεδο των επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA όπως φαίνεται από την μικρή αύξηση ενός δείκτη μέτρησης των βλαβών του DNA που ανήκει στην οικογένεια των φωσφορυλιωμένων ιστονών την γH2AX. Έτσι εξασφαλίζεται η επιβίωση των κυττάρων, καθώς διασφαλίζεται η απαιτούμενη ενέργεια , αναστέλλεται η απόπτωση και αυξάνεται η αυτοφαγία (Σχήμα 9) (Yang F., 2018; Masadah, 2021).



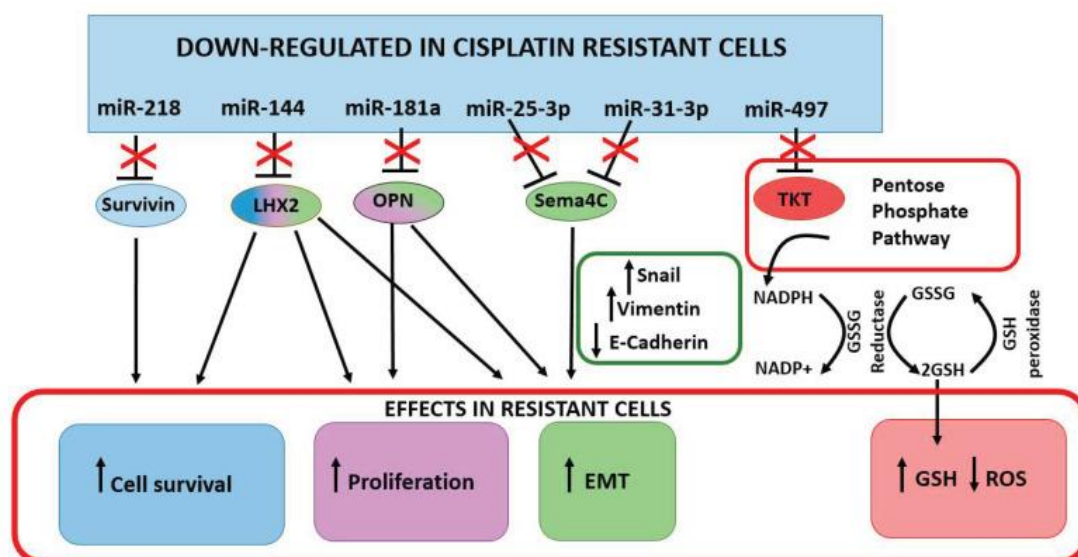
Σχήμα 9 : Η υπερέκφραση των ογκογόνων miRNAs σε ανθεκτικά καρκινικά κύτταρα και ιστούς επηρεάζουν πολλές κυτταρικές διεργασίες όπως η απόπτωση, η αυτοφαγία, η μεταφορά φαρμάκων, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η επιθηλιακή-

μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) (Masadah, 2021). Οι Feng et al (2018) μελέτησαν την επίδραση ενός άλλου miRNA, του miR-130a στην ανάπτυξη αντίστασης σε σισπλατίνη. Στο μοντέλο που πρότειναν, ο παράγοντας SOX9 (SRY-Box Transcription Factor 9) προκάλεσε υπερέκφραση του miR-130a σε ανθεκτικά κύτταρα και ιστούς. Η υπερβολική έκφραση του miR-130a είχε ως αποτέλεσμα τη ελάττωση ενός μεταφορέα εισροής χαλκού, του CTR1 ή hCtr1, που κωδικοποιείται από το γονίδιο SLC31A1 και είναι απαραίτητος για τη μεταφορά χαλκού υψηλής συγγένειας στα κύτταρα και είναι υπεύθυνος για την συσσώρευση σισπλατίνης σε καρκινικά κύτταρα. Έτσι, η ελαττωμένη συγκέντρωση σισπλατίνης οδήγησε στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων HeLa και CaSki, σε συνδυασμό και με τον άλλο γνωστό στόχο του miR-130a που προκαλεί αναστολή της φωσφατάσης και του γονιδίου PTEN (Tensin Homolog) (Σχήμα 9) (Feng C, 2018; Masadah, 2021). Οι Xiong et al (2017) μελέτησαν την επίδραση της υπερέκφρασης του miR-20a στην ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη. Στα ανθεκτικά σε σισπλατίνη καρκινικά κύτταρα βρέθηκε ότι η έκφραση καταστολέων της EMT (επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση) όπως ο F-Box, η πρωτεΐνη FBXL5 (Leucine Rich Repeat Protein 5) και ο παράγοντας BTG-3 (Anti-Proliferation Factor 3) βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα. Οι ερευνητές έδειξαν ότι η υπερέκφραση του miR-20a προκαλεί την μειωμένη έκφραση αυτών των παραγόντων στα κύτταρα HeLa, ενισχύοντας έτσι τον ανθεκτικό φαινότυπο (Σχήμα 9). Επίσης διαπιστώθηκε ότι αυτή η απορρύθμιση σχετίζεται με κακή πρόγνωση των ασθενών (Xiong Y, 2017; Masadah, 2021).

Οι Chen et al (2020) σε πειράματα που διεξήγαγαν έδειξαν ότι η υπερέκφραση του miR-499a-5p οδήγησε σε αυξημένη μετανάστευση και σε αυξημένη αντίσταση σε σισπλατίνη μέσω του γονιδίου στόχου του που είναι το SOX6 (SRY-Box Transcription Factor 6) έναν σημαντικό ογκοκατασταλτικό παράγοντα που παίζει ρόλο στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και στη κυτταρική διαφοροποίηση (Σχήμα 9). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει υποέκφραση αυτού του miRNA σε καρκινικούς ιστούς του τραχήλου σε σύγκριση με γειτονικούς υγιείς οπότε και απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να προσδιοριστεί ο ακριβής ρόλος του στον ΚΤΜ (Masadah, 2021; Chen Y, 2020).

Η μειωμένη έκφραση κυτταρικών miRNAs οδηγεί σε ανθεκτικότητα σε σισπλατίνη στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Ένα σημαντικό miRNA που βρέθηκε ότι είναι σημαντικά μειωμένο σε καρκινικούς ιστούς σε σύγκριση με τους γειτονικούς φυσιολογικούς σε πολλές μορφές καρκίνου και στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, είναι το miR-218 το οποίο είναι σημαντικός ογκοκατασταλτικός παράγοντας. Το miRNA αυτό βρέθηκε να υποεκφράζεται μέχρι και 60% σε κύτταρα HeLa και SiHa με αντοχή στη σισπλατίνη. Το γονίδιο στόχος είναι το Survivin, ένας παράγοντας που ρυθμίζει την απόπτωση, επομένως καταστολή του miRNA στις καρκινικές σειρές έχει ως αποτέλεσμα την διατήρηση της επιβίωσης των κυττάρων. Η αποκατάσταση της έκφρασης του miR-218 βρέθηκε ότι προκαλεί μια αξιοσημείωτη ελάττωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μια αύξηση της χημειοευαισθησίας των κυττάρων (Σχήμα 10) (Li J, 2012; Masadah, 2021).



Σχήμα 10: Τα miRNAs που έχουν μειωμένη έκφραση σε ανθεκτικά καρκινικά κύτταρα και τα γονίδια στόχοι τους (Masadah, 2021).

Οι Shi et al (2019) απέδειξαν το ρόλο της μειωμένης έκφρασης του miR-144 στην ανθεκτικότητα σε σισπλατίνη σε καρκινικά κύτταρα HeLa και SiHa όπου παρατήρησαν ότι το miR-144 εμφανίζεται μειωμένο κατά 50% σε σχέση με φυσιολογικούς ιστούς. Αυτή η μείωση συσχετίστηκε αρνητικά με την αυξημένη έκφραση LIM Homeobox 2 (LHX2). Το LHX2 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που παίζει ρόλο σε πολλές βιολογικές διεργασίες και προωθεί την ογκογένεση και τη μετάσταση. Η αποκατάσταση της ενεργότητας του miR-144 ελάττωσε δραστικά την έκφραση του LHX2 οδηγώντας σε αυξημένο κυτταρικό θάνατο, ανάσχεση του

κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μείωση της μετανάστευσης και δημιουργίας ανθεκτικών κυττάρων σε σισπλατίνη.(Σχήμα 10) (Shi F, 2019; Masadah, 2021).

Το miR-25-3p επίσης βρέθηκε ότι υποεκφράζεται σε κύτταρα HeLa και Caski ανθεκτικά στη σισπλατίνη. Ο στόχος του είναι η Semaphorin 4C (SEMA4C), η οποία ανήκει στην οικογένεια Semaphorins που περιλαμβάνει διαμεμβρανικές και εκκρινόμενες πρωτεΐνες. Οι σεμαφορίνες αποτελούν σημαντικά μόρια του νευρικού συστήματος αλλά επιτελούν και άλλες πολλές σημαντικές λειτουργίες όχι μόνο στα νευρικά κύτταρα αλλά και στα ανοσοκύτταρα και στη παθογένεση του καρκίνου. Στους όγκους, το SEMA4C όταν απορρυθμίζεται προάγει την λεμφική μετάσταση, και την επιθηλιακή -μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) μετατρέποντας τους καρκινικούς όγκους σε μεταστατικούς. Η μειωμένη έκφραση του miR-25-3p έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη υψηλών επιπέδων SEMA4C σε ανθεκτικά σε σισπλατίνη καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας. Αν ωστόσο η έκφραση του miR-25-3p επανέλθει σε φυσιολογικά επίπεδα όχι απλώς μειώνει την μεταστατικότητα των όγκων αλλά αυξάνει και την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη. Επίσης από πειράματα σε ποντίκια, αποδείχθηκε ότι η αποκατάσταση του miR-25-3p προκάλεσε μείωση των όγκων κατά 50% λόγω της αναστροφής του φαινοτύπου EMT και της αύξησης της ρύθμισης της καντερίνης (Song J, 2017). Επίσης οι Jing et al (2019) σε μια πρόσφατη μελέτη τους, κατέληξαν ότι η SEMA4C αποτελεί γονίδιο στόχο στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και για το miR-31-3p προωθώντας επίσης την EMT. Αντίθετα, αποκατάσταση της έκφρασης του miR-31-3p, σε κύτταρα Caski αύξησε την ευαισθησία των κυττάρων αυτών σε σισπλατίνη και οδήγησε σε καλύτερη πρόγνωση επιβίωσης για τους ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Jing L, 2019; Masadah, 2021).

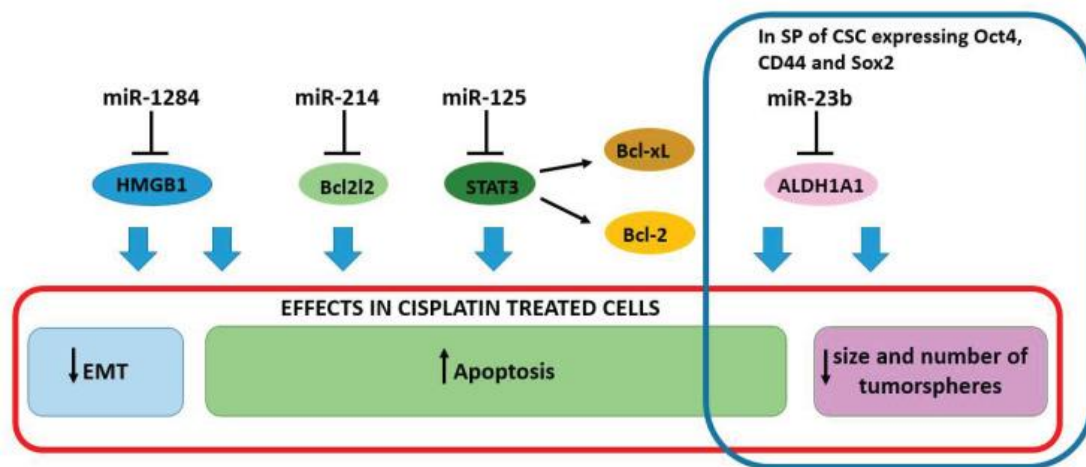
Το miR-181a υποεκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα Caski και HeLa ανθεκτικά σε σισπλατίνη και συσχετίστηκε αντιστρόφως με την έκφραση της Osteopontin (OPN) που αποτελεί το γονίδιο στόχο του. Η OPN είναι μια φωσφορυλιωμένη γλυκοπρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο, και βρίσκεται στη μήτρα των οστών. Η OPN είναι ένας ογκογόνος παράγοντας που συνδέεται με την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου καθώς και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως η σισπλατίνη. Αποκατάσταση της έκφρασής του, έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση, αυξημένη χημειοευαισθησία και μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Masadah, 2021).

Το miR-497 έχει ως στόχο της τρανκετολάση (TKT) ένα ένζυμο που συμμετέχει στο μεταβολικό μονοπάτι της φωσφορικής πεντόζης (PPP), κατά το οποίο παράγεται NADPH από το ένζυμο αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης. Το NADPH συμμετέχει στο αντιοξειδωτικό μονοπάτι της γλουταθειόνης και μετατρέπει την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) σε γλουταθειόνη (GSH), η οποία χρησιμοποιείται από την υπεροξειδάση γλουταθειόνης για τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό. Η υποέκφραση του miR-497 στα καρκινικά κύτταρα HeLa και SiHa ανθεκτικά σε σισπλατίνη προκαλεί υπερέκφραση του TKT και κατά συνέπεια διαθέσιμη υψηλή ποσότητα ενέργειας που είναι απαραίτητο ζητούμενο για τη διατήρηση των καρκινικών κυττάρων και για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Αποκατάσταση της έκφρασής του, έχει ως αποτέλεσμα μείωση της διαθέσιμης ενέργειας και υποβολή των καρκινικών κυττάρων σε οξειδωτικό στρες οδηγώντας σε αυξημένη χημειοευαισθησία (Masadah, 2021).

miRNAs που ενισχύουν την ευαισθησία σε σισπλατίνη

Υπάρχουν miRNAs που μπορεί να αυξήσουν την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη. Ένα από αυτά είναι το ογκοκατασταλτικό miR-1284 που εμφανίζεται να έχει μειωμένη έκφραση σε ιστούς καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και σε καρκινικές κυτταρικές σειρές. Σε ασθενείς όπου το συγκεκριμένο miRNA υποεκφράζεται καταγράφηκαν χαμηλά ποσοστά επιβίωσης ενώ παρατηρήθηκε υψηλός βαθμός μετάστασης λεμφαδένων. Ως στόχος του miR-1284 εντοπίστηκε το γονίδιο HMGB1 το οποίο κωδικοποιεί μια πυρηνική πρωτεΐνη που συνδέεται με το DNA και λειτουργεί ως παράγοντας διαμόρφωσης της χρωματίνης στο πυρήνα. Ωστόσο, όταν το κύτταρο βρίσκεται κάτω από συνθήκες στρες, η HMGB1 μετακινείται στο κυτταρόπλασμα όπου αλληλεπιδρά με την beclin-1 και επιδιώκει να προωθήσει την επιβίωση του κυττάρου. Για το λόγο αυτό η HMGB1 θεωρείται αντιαποπτωτική πρωτεΐνη και έχει αποδειχθεί ότι έχει ογκογόνο ρόλο σε πολλούς ανθρώπινους καρκίνους, προωθώντας παράλληλα την EMT. Αύξηση της έκφρασης του miR-1284 αυξάνει το κυτταρικό θάνατο, αναστέλλει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αυξάνει την ευαισθησία των κυττάρων σε σισπλατίνη. Η σχέση μεταξύ σισπλατίνης και miR-1284 αποδείχθηκε και από τους Wang που δημιούργησαν συζεύξεις miRNA-1284/σισπλατίνης σε λιποσώματα και παρατήρησαν ότι η χορήγηση τους σε καρκινικά κύτταρα οδήγησαν σε υψηλότερη θανάτωση καρκινικών κυττάρων από ότι προκαλούσε μόνο η σισπλατίνη. Έτσι το miR-1284 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί

σαν ένας παράγοντας αύξησης της χημειοευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη (Σχήμα 11) (Wang L, 2020; Masadah, 2021)



Σχήμα 11 : Τα miRNAs που συμβάλλουν στην ευαισθητοποίηση των κυττάρων έναντι της σισπλατίνης (Masadah, 2021).

Σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι η αντίσταση στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα προκαλείται από την αντίσταση στην απόπτωση. Στη κυτταρική απόπτωση, πρωταρχικό ρόλο παίζουν τα γονίδια της οικογένειας Bcl-2 που αντιδρούν σε ερεθίσματα δυσλειτουργιών και οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο. Το BCL2L2, επίσης γνωστό ως BCLW παράγει μια πρωτεΐνη προ-επιβίωσης, και υπερεκφράζεται σε καρκινικούς ιστούς προκαλώντας αναστολή του κυτταρικού θανάτου. Το επίπεδο του mRNA του BCL2L2 ρυθμίζεται αντιστρόφως από την έκφραση του miR-214, το οποίο συνδέεται άμεσα με την 3-αμετάφραστη περιοχή του. Η αποκατάσταση της έκφρασης του miR-214 σε κύτταρα HeLa και C-33A οδήγησε σε απόπτωση μέσω της ενεργοποίησης των κασπασών 8 και 9 και αύξησε την ευαισθησία των κυττάρων σε σισπλατίνη. Πράγματι βρέθηκε ότι ο έλεγχος της ρύθμιση της BCL2L2 αύξησε την ευαισθησία σε σισπλατίνη κατά περίπου 8 φορές (Wang F, 2013). Στο μεταβολικό μονοπάτι της απόπτωσης βρέθηκε ότι επιδρά και το miR-125, το οποίο δρα πάνω στον μεταγραφικό παράγοντα STAT-3 που όταν απορρυθμίζεται συμβάλλει στην ογκογένεση και την χημειοαντίσταση (Masadah, 2021). Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs) είναι αποδεδειγμένο ότι αποτελούν βασικούς παράγοντες έναρξης των όγκων, αλλά καθορίζουν και άλλα χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος του όγκου, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η απάντηση στη θεραπευτική προσέγγιση καθώς και η πιθανότητα επιβίωσης. Υπάρχουν πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες που είναι

χαρακτηριστικοί των κυτταρικών βλαστικών κυττάρων όπως οι CD44, CD90, CD133, CD271, SRY-Box Transcription Factor 2 (SOX2) κ.ά. Στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα έχουν συσχετιστεί με αντίσταση στη σισπλατίνη. Στα κύτταρα η υποέκφραση του miR-23b προκαλεί αντίσταση σε σισπλατίνη και αύξηση του μεγέθους των όγκων, ενώ η επιμόλυνση με miR-23b μείωσε δραματικά το μέγεθος και τον αριθμό των καρκινικών σφαιρών (Masadah, 2021).

Οι ρυθμιστικές θηλιές που σχηματίζουν τα miRNAs και lncRNAs καθορίζουν την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη

Πρόσφατα έχει βρεθεί ότι σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας των καρκινικών κυττάρων σε σισπλατίνη παίζει η αλληλεπίδραση του miR-21 με δυο μακρά μη-κωδικά μόρια RNA (lncRNAs) τα GAS5 και CASC. Τα lncRNAs λειτουργούν ως “σπόγγοι” για το miR-21 ρυθμίζοντας την έκφρασή του. Η υπορύθμιση του CAS5 σε ανθεκτικές καρκινικές σειρές SiHa είχε ως αποτέλεσμα υπερέκφραση του miR-21 οδηγώντας σε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μείωση της απόπτωσης. Επιπλέον η υπερέκφραση του miR-21 οδηγεί σε καταστολή του PTEN (phosphatase and tensin homolog) η οποία καταστολή οδηγεί σε ενεργοποίηση του μονοπατιού PTEN/PI3K/AKT/MTOR το οποίο μέσω φωσφορυλίωσης εμποδίζει το κυτταρικό θάνατο και αυξάνει την ανθεκτικότητα σε αντικαρκινικά φάρμακα (Wen Q, 2017). Με όμοιο μηχανισμό επιδρά πάνω στο miR-21 κι η απορρύθμιση του lncRNA CASC οδηγώντας σε αυξημένη αντίσταση σε καρκινικά κύτταρα. Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί ότι και το miR-21 μπορεί να επιδράσει πάνω στα lncRNAs δημιουργώντας μια ρυθμιστική «θηλιά» που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα σε σισπλατίνη (Masadah, 2021). Σε άλλη μελέτη οι (Zhang Y L. Y.-J., 2019) αναφέρουν την αλληλεπίδραση του miR-135-5p με το lncRNA NCK1-AS1 και τη πρωτεΐνη MSH2 στα καρκινικά κύτταρα και την σχέση του με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε σισπλατίνη. Βρέθηκε ότι το NCK1-AS1 υπερεκφράζεται έως και τρεις φορές παραπάνω στα καρκινικά κύτταρα σε σχέση με τα γειτονικά φυσιολογικά και οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του miR-134-5p καθώς δεσμεύεται ανταγωνιστικά πάνω σε αυτό. Το miR-134-5p βρέθηκε ότι μειώνει την αντίσταση σε σισπλατίνη καθώς επιδρά πάνω στην MSH2, επομένως μειωμένη έκφραση οδηγεί σε πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και αυξημένη επιβίωση (Zhang Y L. Y.-J., 2019; Masadah, 2021).

miRNAs που συμβάλλουν στην ακτινοαντίσταση στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Σήμερα η πιο διαδεδομένη θεραπευτική προσέγγιση για το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας σε προχωρημένο στάδιο ή για καρκίνους που βρίσκονται υπό υποτροπή είναι ο συνδυασμός χημειοθεραπείας με φάρμακα όπως η σισπλατίνη και η ακτινοθεραπεία. Η συνδυαστική αυτή θεραπευτική προσέγγιση έχει βοηθήσει στο βελτιωμένο έλεγχο των όγκων και στην αύξηση του ποσοστού επιβίωσης. Η ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στην προσπίπτουσα ακτινοβολία έχει βρεθεί ότι επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την δράση των miRNAs (Masadah, 2021).

Γενικά τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση των miRNAs στην αντοχή των καρκινικών κυττάρων στην ακτινοβολία είναι περιορισμένα, ωστόσο έχουν δημοσιευθεί πρόσφατες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε καρκινικές κυτταρικές σειρές (κύτταρα SiHa) ή καρκινικούς τραχηλικούς ιστούς, που έχουν διακριβώσει κάποιους από τους μηχανισμούς με τους οποίους τα miRNAs επηρεάζουν την ακτινοανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων.

Οι Gao et al (2019) μελέτησαν την επίδραση των miR-106b και miR-181a και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η υπερέκφραση τους οδηγεί τα καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας σε αντοχή σε ακτινοβολία δηλαδή λειτουργούν ως επαγωγείς ακτινοαντίστασης. Η υπέρμετρη έκφραση του miR-106b προκαλεί αναστολή του παράγοντα IER3, ο οποίος διαμεσολαβεί οδηγώντας σε κυτταρική απόπτωση με αποτέλεσμα την αύξηση των κυττάρων που επιζούν μετά την επίδραση ακτινοβολίας. Η έκφραση του miR-106b ελέγχεται από το lncRNA GAS5 το οποίο δρα ως μοριακός σπόγγος του miRNA. Επομένως υπορύθμιση του lncRNA σε καρκινικά κύτταρα οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα του miR-106b. Αποκατάσταση της έκφρασης του GAS5 αποδείχθηκε ότι αύξησε την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στην επίδραση της ακτινοβολίας, υπονοώντας έτσι την ύπαρξη μιας μεταβολικής οδού GAS5-miR-106b-IER3 που είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη ακτινοανθεκτικότητας στα καρκινικά κύτταρα. Η ανακάλυψη ότι το GAS5 παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, ρυθμίζοντας την έκφραση τόσο του miR-106b όσο και miR-21, υποδεικνύει την πολυπλοκότητα των ρυθμιστικών μηχανισμών που λειτουργούν στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Gao J, 2019; Masadah, 2021).

Οι Ke et al (2013) πρότειναν επίσης ότι η υπερέκφραση του miR-181a σε καρκινικές σειρές SiHa και σε μοντέλα ποντικού οδηγεί σε αύξηση της ανθεκτικότητας των κυττάρων σε ακτινοβολία. Το miR-181a ρυθμίζει αρνητικά την πρωτεϊνική κινάση C Delta (PRKCD) η οποία προκαλεί απόπτωση και μετάβαση των κυττάρων στη φάση G2/M όπου θεωρείται ότι τα κύτταρα είναι πιο ευαίσθητα στην επίδραση της ακτινοβολίας. Απορρύθμιση της έκφρασης του miR-181 προς τα πάνω, αύξησε την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων αναστέλλοντας την μετάβαση στη φάση G2 / M (Ke G, 2013; Masadah, 2021).

Εκτός από τα miRNAs που υπερεκφράζονται και προκαλούν ανθεκτικότητα στην ραδιοθεραπεία υπάρχουν και miRNAs, η μειωμένη έκφραση των οποίων έχει επίσης αποδειχθεί ότι οδηγεί σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε καρκινικά κύτταρα και ιστούς. Τέτοια είναι τα miR-15a-3p, miR-132, miR-145, miR-499a-5p, το miR-512-5p και το miR-4429 τα οποία σχετίζονται κυρίως με την αποπτωτική οδό.

Το miR-15a-3p εδράζεται στο χρωμόσωμα 13q14 και έχει ως γονίδιο στόχο το πρωτό-ογκογονίδιο της πρωτεΐνης TPD52 που εδράζεται στο χρωμόσωμα 8 στη θέση 8q21 και προκαλεί αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Υπόεκφραση του miR-15a-3p ενισχύει τη δράση της TDD-52 και οδηγεί σε ογκογένεση. Έχει βρεθεί ότι η θεραπεία με ακτινοβολία αυξάνει την έκφραση του miR-15a-3p αυξάνοντας έτσι την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων που προκαλείται από την ακτινοβολία (Miao J, 2020).

Ομοίως, το miR-499a-5p όταν υποεκφράζεται οδηγεί σε απορρύθμιση του γονιδίου στόχου του που είναι το πρωτο-ογκογονίδιο eIF4AE που αυξάνει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την καρκινογένεση και την εισβολή. Η επίδραση ακτινοβολίας αυξάνει την έκφραση του miR-499a-5p που οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων σε ακτινοβολία (Gu X, 2020).

Το miR-132 είναι άλλο ένα miRNA που υποεκφράζεται σε καρκινικούς ιστούς. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η αντίσταση στην ακτινοβολία μπορεί να οφείλεται στην ενεργοποίηση των επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA καθώς η ακτινοβόληση στοχεύει στη νέκρωση των καρκινικών όγκων μέσω της καταστροφής του DNA. Η αύξηση της έκφρασης του miR-132 αυξάνει την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων οδηγώντας σε απόπτωση και αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καθώς ρυθμίζει καθοδικά το γονίδιο στόχο BMI-1 που σχετίζεται με το πολλαπλασιασμό του όγκου και τη μετάσταση (Miao J, 2020). Επιπλέον έχει

δειχθεί ότι η συνδυασμένη χορήγηση εξωγενούς miR-132 ταυτόχρονα με ακτινοβολία σε μοντέλα ποντικών, κατέστειλε την παραγωγή όγκων καταδεικνύοντας τη χρησιμότητα του συγκεκριμένου miRNA ως ενισχυτικού της θεραπείας με ακτινοβολία (Liu G-F, 2017; Masadah, 2021).

Το miR-145 είναι υπορρυθμισμένο στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και έχει βρεθεί ότι μπορεί να παίζει ρόλο στην αύξηση της ευαισθησίας των κυττάρων μέσω δύο στόχων του. Ο πρώτος στόχος του είναι ο μεταγραφικός παράγοντας Helicase-like-transcription factor (HLTF) ο οποίος ενισχύει τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA μειώνοντας έτσι το κυτταρικό θάνατο. Η αύξηση της έκφρασης του miR-145 ρυθμίζει αρνητικά τον HLTF αυξάνοντας έτσι την απόπτωση. Στο ίδιο αποτέλεσμα μπορεί να οδηγηθούν και κύτταρα στα οποία χορηγήθηκε εξωγενώς μιμητικό miR-145. Ωστόσο στη περίπτωση αυτή η αύξηση της ευαισθησίας διαπιστώθηκε ότι προκλήθηκε από την επίδραση του miR-145 πάνω στον παράγοντα PUO5F1, ο οποίος εμποδίζει την απόπτωση και αυξάνει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Yan S, 2016; Masadah, 2021).

Ένα ογκοκατασταλτικό miRNA που ανακαλύφθηκε πρόσφατα είναι το miR-4429 που βρέθηκε να έχει μειωμένη έκφραση σε καρκινικά τραχηλικά κύτταρα SiHa και HeLa και ακόμη περισσότερο μειωμένη έκφραση σε ανθεκτικά σε ακτινοβολία κύτταρα. Πράγματι, αποκατάσταση της έκφρασης του σε ανθεκτικά κύτταρα μείωσε τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης RAD51, η οποία παίζει βασικό ρόλο στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA, αυξάνοντας έτσι την ακτινοευαισθησία και οδηγώντας σε ενισχυμένη απόπτωση (Sun H, 2020; Masadah, 2021).

Οι Zhang et al (2020) παρατήρησαν ότι το miR-512-5p που υποεκφράζεται σε καρκινικούς ιστούς έχει ως στόχο το MUC-1 ένα γονίδιο που ελέγχει την απόπτωση. Σε κύτταρα ευαίσθητα σε ακτινοβολία διαπιστώθηκε υψηλότερη έκφραση του miR-512-5p σε σχέση με ασθενείς με φτωχή απόκριση στην ακτινοθεραπεία. Επομένως προτείνεται ότι υπερέκφραση του miR-512-5p, μειώνει την έκφραση του γονιδίου MUC1, προωθώντας την απόπτωση των κατεστραμμένων κυττάρων και ελαττώνοντας τα ποσοστά επιβίωσης των ακτινοβολημένων καρκινικών κυττάρων (Zhang J, 2020).

miRNAs που σχετίζονται με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία

Υπάρχουν πολλές μελέτες που υποδηλώνουν το τρόπο επίδρασης των miRNAs στην ανάπτυξη χημειοαντίστασης και ακτινοαντίστασης σε καρκινικές κυτταρικές σειρές ωστόσο είναι περιορισμένα τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τη δυνατότητα χρήσης του προφίλ έκφρασης των miRNAs στη πρόβλεψη της ανταπόκρισης ενός ασθενούς στη χημειοθεραπεία.

Οι Fekete et al (2020) σε πρόσφατη μελέτη τους εντόπισαν τρία miRNAs (miR-342, miR378c και miR-155) που παρουσίαζαν διαφορετικά πρότυπα έκφρασης ανάμεσα σε ασθενείς που ανταποκρίνονταν στη θεραπεία και σε αυτούς που δεν ανταποκρίνονταν υποδηλώνοντας ότι αυτά τα miRNAs διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στη σισπλατίνη και ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί προγνωστικοί δείκτες για την ανταπόκριση των ασθενών με καρκίνωμα των πλακωδών κυττάρων σε χημειοθεραπεία (Fekete J T, 2020).

Οι Pedroza-Torres et al (2016) στη κλινική μελέτη τους κατέληξαν σε ένα συνδυασμό miRNAs που φαίνεται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης για την ανταπόκριση σε συνδυασμένη χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία. Από τους επιλεγμένους ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας σε προχωρημένο στάδιο συλλέχθηκαν ιστοί πριν από τη θεραπεία και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε συνδυαστική θεραπεία με σισπλατίνη και ακτινοθεραπεία. Σε ασθενείς που εμφάνισαν υψηλή απόκριση στη θεραπεία, διαπιστώθηκε υψηλή έκφραση miR-100-5p, miR-125a, miR-125b, miR-200a-5p και miR-342 ενώ αντίθετα υπερέκφραση των miR-31-3p και miR-3676 βρέθηκε σε ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία. Από τα αποτελέσματα και των δύο αυτών μελετών φαίνεται ότι το miR-342 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα πιθανός προγνωστικός δείκτης για την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπευτική προσέγγιση και επομένως πρέπει να γίνουν στο μέλλον περισσότερες έρευνες *in vivo* για τη διασαφήνιση του ρόλου του συγκεκριμένου miRNA (Masadah, 2021; Pedroza-Torres A, 2016).

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την μελέτη της πρόσφατης υπάρχουσας βιβλιογραφίας, διαφαίνεται ότι υπάρχει μια πληθώρα ερευνητικών μελετών που προτείνουν ότι τα miRNAs έχουν πολλαπλές επιδράσεις στην εμφάνιση και ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επίσης από τα αποτελέσματα μελετών καταδεικνύεται η δυνατότητα χρήσης των miRNAs ως βιοδείκτες για τη έγκαιρη διάγνωση (κυρίως μετά την ανίχνευση των κυκλοφορούντων miRNAs στον ορό), ως θεραπευτικοί παράγοντες καθώς και ως μέσα ενίσχυσης της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων σε ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Ωστόσο, η πολυπλοκότητα των μηχανισμών με τους οποίους δρουν, η πολλαπλή δράση τους πάνω σε βασικά μεταβολικά μονοπάτια και σε γονίδια, καθιστούν την αποσαφήνιση του ρόλου τους μια πρόκληση για τους ερευνητές. Μόνο αν διασαφηνιστούν πλήρως οι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν τα miRNAs πάνω στις μεταβολικές οδούς, θα μπορέσει η γνώση να χρησιμοποιηθεί στη κλινική πρακτική για την αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

V.1 Μελλοντικές προοπτικές

Οι τρέχουσες ερευνητικές μελέτες και τα δεδομένα αποκαλύπτουν την διαγνωστική δυναμική και τις θεραπευτικές δυνατότητες που θα μπορούσαν να έχουν τα miRNAs όχι μόνο για το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και τους άλλους γυναικολογικούς καρκίνους αλλά και άλλους τύπους καρκίνων. Ωστόσο από τη παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση διαφαίνεται ότι για να μπορέσουν τα miRNAs μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν είτε για διαγνωστικούς είτε για θεραπευτικούς σκοπούς σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, πρέπει να έχει πρώτα κατανοηθεί πλήρως ο τρόπος δράσης τους. Αυτό δεν είναι και τόσο εύκολο καθώς έχει βρεθεί ότι ένα και μόνο miRNA μπορεί να έχει περισσότερα από ένα γονίδια στόχους, καθώς και ότι ένα μόνο γονίδιο μπορεί να ελέγχεται από πολλαπλά miRNAs. Επομένως, για να μπορέσει να επιλεγεί ένα miRNA ως θεραπευτικό ή διαγνωστικό μέσο, θα πρέπει να έχει κατανοηθεί πλήρως ο τρόπος δράσης του, να ταυτοποιηθούν όλα τα γονίδια στόχοι του και να διερευνηθούν και να αξιολογηθούν προσεκτικά τα αποτελέσματα της συνδυαστικής δράση του. Σήμερα υπάρχουν πολλαπλά ευρήματα για τη λειτουργικότητα miRNAs στο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν έχουμε ακόμη κατανοήσει το τρόπο δράσης τους, π.χ. βρέθηκε ότι το miR-26a αναστέλλει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση *in vitro* ενώ *in vivo* ανέστειλε την ανάπτυξη όγκων. Επομένως ο εμπλουτισμός των γνώσεων σε σχέση με το τρόπο δράσης των miRNAs μπορεί να βοηθήσει στην επιλογή του καταλληλότερου miRNA για συγκεκριμένο διαγνωστικό, θεραπευτικό ή προγνωστικό σκοπό. Επιπλέον θα πρέπει να αναπτυχθούν επιπλέον οι στρατηγικές χειρισμού των επιπέδων miRNA εξατομικευμένα σε κάθε ασθενή με καρκίνο. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε ταχύτερη μετάφραση των κλινικών ευρημάτων και επιλογή της κατάλληλης προσέγγισης προς όφελος των εκατομμυρίων καρκινοπαθών παγκοσμίως.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AGOs	Argonaute-binding domains,
ANXA1	Annexin A1
Bcl-2	b-cell lymphoma 2
BCRP-1	Breast cancer resistance protein 1
BTG3	Anti proliferation Facto3 3
COBRA	Combined bisulfide restriction analysis
COX-2	Cyclo oxygenase 2
CTGF	Connective tissue growth factor
CYR61	matricellular protein Cyr61
DGCR8	DiGeorge syndrome critical region 8
DICER	endoribonuclease Dicer with RNase motif
DROSHA	Drosophila ribonuclease III human
EGFR	epidermal growth factor receptor
EMT	Epithelial mesenchymal transition
FBXL5	Leucine Rich Repeat protein 5
FOXP3	forkhead box P3
GCSF	granulocyte colony stimulating factor
HLTF	Helicase like transcription factor
HMGA1	high mobility group AT-hook 1
HMGB1	high mobility group box protein 1
HPV	human papilloma virus
hTERT	human telomerase reverse transcriptase
IFN- α	interferon alpha

IKK β	inhibitor of NF κ B kinase beta
IL	interleukin
IRAK1	interleukin-1 receptor-associated kinase 1
KLF	Krüppel-like factor
Let-7a	lethal 7a
lncRNAs	long non-coding RNAs
MDR-1	Multidrug resistance protein
miRNA	micro ribonucleic acid
MMP	matrix metalloproteinase
MS-PCR	Methylation specific polymerase chain reaction
MUC1	Mucin 1
MXR	Mitoxantrone resistance protein
NF- κ B	nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells
NPs	nanoparticles
OPN	osteopontin
PARP1	Poly-ADP-ribose polymerase 1
PDCD4L	programmed cell death 4
PI3K/AKT	phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B
PRKCD	Protein kinase C Delta
PTEN	phosphatase and tensin homolog
PUO5F1	POU class 5 homeobox 1
qRT-PCR	quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction
RBPs	RNA binding proteins
RISC	RNA-induced silencing complex

ROC curve	receiver operating characteristic curve
SEMA4C	Semaphorin 4C
siRNA	small interfering RNA
SNP	single nucleotide polymorphism
SOX	SPY box transcription factor
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3
TGF- β	transforming growth factor beta
Th2	T-helper lymphocytes type 2
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinase
TKT	transketolase
TNF- α	tumor necrosis factor alpha
TRAF6	TNF receptor associated factor
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VEGF	vascular endothelial growth factor
Wnt	Wingless/integrase 1
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein
YKL-40	chitinase-3-like protein 1
zeb	zinc finger and homeobox transcription factor

Βιβλιογραφία

- Allegra A, M. C. (2020). Interactions between the MicroRNAs and Microbiota in Cancer Development: Roles and Therapeutic Opportunities. *Cancers*, 12(4), 805. <https://doi.org/10.3390/cancers12040805>.
- Chen J, L. G. (2018). MiR-1284 enhances sensitivity of cervical cancer cells to cisplatin via downregulating HMGB1. *Biomedecine & pharmacotherapie* 2018;107: 997–1003.
- Chen Y., S. Y. (2020). MicroRNA-499a Promotes the Progression and Chemoresistance of Cervical Cancer Cells by Targeting SOX6. *Apoptosis*. 2020;25:205–216.
- Dwivedi S, R. G. (2021). Small Non-Coding-RNA in Gynecological Malignancies. *Cancers*, 13(5), 1085. <https://doi.org/10.3390/cancers13051085>.
- Fan JY, F. Y. (2017). miR-429 is involved in regulation of NF-kappaB activity by targeting IKKbeta and suppresses oncogenic activity in cervical cancer cells. *FEBS letters* 2017;591: 118–28.
- Fan Z, C. H. (2015). MiR-125a suppresses tumor growth, invasion and metastasis in cervical cancer by targeting STAT3. *Oncotarget* 2015;6: 25266–80.
- Farzanehpour M et al, M. S. (2019). Serum and tissue miRNAs: potential biomarkers for the diagnosis of cervical cancer. *Virology journal*, 16(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s1298>.
- Fekete J T, W. Á. (2020). MiRNA Expression Signatures of Therapy Response in Squamous Cell Carcinomas. *Cancers* 2020;13:63. doi: 10.3390/cancers13010063.
- Feng C., M. F. (2018). SOX9/MiR-130a/CTR1 Axis Modulates DDP-Resistance of Cervical Cancer Cell. *Cell Cycle*. 2018;17:448–458.
- Foran C, B. A. (2015). Prevention and early detection of cervical cancer in the UK. 2015 May 28-Jun 10. *Br J Nurs*. 24(10):S22-4, S26, S28-9. .
- Fowler JR et al, M. E. (2021). Cervical Cancer. [Updated 2021 Apr 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431093/>.
- Fu K, Z. L. (2020). MiR-125 inhibited cervical cancer progression by regulating VEGF and PI3K/AKT signaling pathway. *World J Surg Oncol*. 2020 May 30;18(1):115. doi: 10.1186/s12957-020-01881-0. PMID: 32473637; PMCID: PMC7261381.
- Gao J, L. L. (2019). LncRNA GAS5 Confers the Radio Sensitivity of Cervical Cancer Cells via Regulating MiR-106b/IER3 Axis. *Int. J. Biol. Macromol*. 2019;126:994–1001.

- Ghosh S. (2019). Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorganic Chem.* 2019;88:102925. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925.
- Granados López, A. J. (2014). Multistep model of cervical cancer: participation of miRNAs and coding genes. *International journal of molecular sciences*, 15(9), 15700–15733. <https://doi.org/10.3390/ijms150915700>.
- Gu X, D. M. (2020). MiR-499a-5p Inhibits Proliferation, Invasion, Migration, and Epithelial–Mesenchymal Transition, and Enhances Radiosensitivity of Cervical Cancer Cells via Targeting EIF4E. *OncoTargets Ther.* 2020;13:2913–2924.
- Hayder H, O. J. (2018). MicroRNAs: crucial regulators of placental development. *Reproduction (2018)* 155:R259–71. 10.1530/REP-17-0603.
- Hoare BS, K. Y. (2021). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Female Internal Genitals. [Updated 2020 Jul 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554601/>.
- Huang F, L. C. (2013). MicroRNA-101 inhibits cell proliferation, invasion, and promotes apoptosis by regulating cyclooxygenase-2 in Hela cervical carcinoma cells. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14(10):5915-20.
- Jing L, B. W. (2019). Sema4C Mediates EMT Inducing Chemotherapeutic Resistance of MiR-31-3p in Cervical Cancer Cells. *Sci. Rep.* 2019;9.
- Jing L., B. W. (2019). Sema4C mediates EMT inducing chemotherapeutic resistance of miR-31-3p in cervical cancer cells. *Sci. Rep.* 2019;9.
- Ke G, L. L. (2013). MiR-181a Confers Resistance of Cervical Cancer to Radiation Therapy through Targeting the pro-Apoptotic PRKCD Gene. *Oncogene.* 2013;32:3019–3027.
- Konishi H, H. M. (2020). The therapeutic potential of exosomal miR-22 for cervical cancer radiotherapy. *Cancer Biol Ther.* 2020 Dec 1;21(12):1128-1135.
- Li J., P. Z. (2012). MiR-218 Impairs Tumor Growth and Increases Chemo-Sensitivity to Cisplatin in Cervical Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2012;13:16053–16064.
- Liu G-F, Z. S.-H.-F.-Y.-Z.-N. (2017). Overexpression of MicroRNA-132 Enhances the Radiosensitivity of Cervical Cancer Cells by down-Regulating Bmi-1. *Oncotarget.* 2017;8:80757–80769.
- Liu J, Z. H. (2020). Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein-induced upregulation of lysine-specific demethylase 5A promotes cervical cancer progression by regulating the microRNA-424-5p/suppressor of zeste 12 pathway. *Exp Cell Res.* 2020 Nov 1;396(1):112277.
- Liu J., Z. H. (2021). Investigating the Underlying Mechanisms of Circular RNAs and Their Application in Clinical Research of Cervical Cancer. *Frontiers in genetics*, 12, 653051. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.653051>.

- Luria L et al, C.-F. G. (2021). Human Papillomavirus. [Updated 2021 Jan 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448132/>.
- Makovec T. (2019). Cisplatin and Beyond: Molecular Mechanisms of Action and Drug Resistance Development in Cancer Chemotherapy. *Radiol. Oncol.* 2019;53:148–158.
- Masadah, R. R. (2021). The Role of microRNAs in the Cisplatin- and Radio-Resistance of Cervical Cancer. *Cancers*, 13(5), 1168. <https://doi.org/10.3390/cancers13051168>.
- Miao J, R. J. (2020). The roles of microRNA in human cervical cancer. *Arch Biochem Biophys.* 2020 Sep 15;690:108480. doi: 10.1016/j.abb.2020.108480. Epub 2020 Jul 16. PMID: 32681832.
- Nuovo G.J., W. X. (2010). Strong inverse correlation between microRNA-125b and human papillomavirus DNA in productive infection. *Diagn. Mol. Pathol.* 2010;19:135–143.
- O'Brien J et al, H. H. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>.
- Pardini B., D. M. (2018). MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review. *BMC Cancer.* 2018;18(1):696. doi: 10.1186/s12885-018-4590-4. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] .
- PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. [Figure, Anatomy of the female reproductive...] Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65951/figure/CDR0000044473__3/. (2002).
- Pedroza-Torres A, F.-R. J.-Z.-H.-C.-C.-P. (2016). A MicroRNA Expression Signature for Clinical Response in Locally Advanced Cervical Cancer. *Gynecol. Oncol.* 2016;142:557–565.
- Pierre-Victor D, S. D.-B. (2018). Barriers to HPV Vaccination Among Unvaccinated, Haitian American College Women. *Health Equity.* 2018;2(1):90-97.
- Sadri Nahand, J. M.-S. (2020). Pathogenic role of exosomes and microRNAs in HPV-mediated inflammation and cervical cancer: A review. *International journal of cancer*, 146(2), 305–320. <https://doi.org/10.1002/ijc.32688>.
- Sammarco, M. L. (2020). Human Papillomavirus Infections, Cervical Cancer and MicroRNAs: An Overview and Implications for Public Health. *MicroRNA (Shariqah, United Arab Emirates)*, 9(3), 174–186. <https://doi.org/10.2174/2211536608666191026115045>.
- Shen S, Z. S. (2020). Potential role of microRNAs in the treatment and diagnosis of cervical cancer. . *Cancer Genet.* 2020 Oct;248-249:25-30.

- Shi F, S. J. (2019). MiR-144 Reverses Cisplatin Resistance in Cervical Cancer via Targeting LHX2. *J. Cell. Biochem.* 2019;120:15018–15026.
- Shi M., D. L. (2012). Glucocorticoid Regulation of a Novel HPV–E6–P53–MiR-145 Pathway Modulates Invasion and Therapy Resistance of Cervical Cancer Cells. *J. Pathol.* 2012;228:148–157.
- Shishodia G, S. S. (2015). Alterations in microRNAs miR-21 and let-7a correlate with aberrant STAT3 signaling and downstream effects during cervical carcinogenesis. *Molecular cancer* 2015;14: 116. .
- Song J, L. Y. (2017). MiR-25-3p Reverses Epithelial-mesenchymal Transition via Targeting Sema4C in Cisplatin-resistance Cervical Cancer Cells. *Cancer Sci.* 2017;108:23–31.
- Sun H, F. G. (2020). MiR-4429 Sensitized Cervical Cancer Cells to Irradiation by Targeting RAD51 *J. Cell. Physiol.* 2020;235:185–193. .
- Sun L, W. D. (2016). Significance of high YKL-40 expression regulated by miR-24 in cervical cancer progression and prognosis. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL PATHOLOGY* 2016;9: 5128–37.
- Vienberg, S. G. (2017). MicroRNAs in metabolism. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 219(2), 346–361. <https://doi.org/10.1111/apha.12681>.
- Wang A, .. X. (2021). MicroRNA-29a inhibits cell proliferation and arrests cell cycle by modulating p16 methylation in cervical cancer. *Oncology letters*, 21(4), 272. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12533>.
- Wang F, L. M. (2013). MiR-214 Reduces Cell Survival and Enhances Cisplatin-Induced Cytotoxicity via down-Regulation of Bcl2l2 in Cervical Cancer Cells. *FEBS Lett.* 2013;587:488–495.
- Wang J et al, Y. &. (2019). The role of miRNAs in the invasion and metastasis of cervical cancer. *Bioscience reports*, 39(3), BSR20181377. <https://doi.org/10.1042/BSR20181377>.
- Wang L, L. T. (2020). CD59 Receptor Targeted Delivery of MiRNA-1284 and Cisplatin-Loaded Liposomes for Effective Therapeutic Efficacy against Cervical Cancer Cells. *AMB Express.* 2020;10.
- Wang, Y. Z. (2019). MicroRNA-21 and its impact on signaling pathways in cervical cancer. *Oncology letters*, 17(3), 3066–3070. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10002>.
- Wen Q., L. Y. (2017). Long Noncoding RNA GAS5, Which Acts as a Tumor Suppressor via MicroRNA 21, Regulates Cisplatin Resistance Expression in Cervical Cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2017;27:1096–1108.
- Wiggins JF, R. L. (2010). Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer research* 2010;70: 5923–30.

- Xiong Y., S. F. (2017). IASPP Induces EMT and Cisplatin Resistance in Human Cervical Cancer through MiR-20a-FBXL5/BTG3 Signaling. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2017;36:48. doi: 10.1186/s13046-017-0520-6.
- Yan S, L. X. (2016). MicroRNA-145 Sensitizes Cervical Cancer Cells to Low-Dose Irradiation by Downregulating OCT4 Expression. *Exp. Ther. Med.* 2016;12:3130–3136.
- Yang F., G. L. (2018). MicroRNA-7-5p Promotes Cisplatin Resistance of Cervical Cancer Cells and Modulation of Cellular Energy Homeostasis by Regulating the Expression of the PARP-1 and BCL2 Genes. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 2018;24:6506–6516.
- Yu F, L. J. (2021). The diagnostic value of miR-145 and miR-205 in patients with cervical cancer. *Am J Transl Res.* 2021 Mar 15;13(3):1825-1832.
- Zhang J, W. L. (2020). Elevation of MicroRNA-512-5p Inhibits MUC1 to Reduce Radioresistance in Cervical Cancer. *Cell Cycle.* 2020;19:652–665.
- Zhang Y, L. Y.-J. (2019). Suppression of Long Noncoding RNA NCK1-AS1 Increases Chemosensitivity to Cisplatin in Cervical Cancer. *J. Cell. Physiol.* 2019;234:4302–4313.
- Zhang Y, W. Z. (2018). MicroRNA-155 regulates cervical cancer via inducing Th17/Treg imbalance. *European review for medical and pharmacological sciences* 2018;22: 3719–26.
- Zou, Y. L. (2017). Mutational analysis of the RAS/RAF/MEK/ERK signaling pathway in 260 Han Chinese patients with cervical carcinoma. *Oncology letters*, 14(2), 2427–2431. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6435>.
- Το κύτταρο: Μια μοριακή προσέγγιση (Τόμος 2^{ος} σελ. 1091, Cooper C.M. and Hausman, Ακαδ. Εκδ. Μπασδρά, Αλεξ/πολη 2011)
- Regalado Porras GO, Chávez Noguera J, Poitevin Chacón A. Chemotherapy and molecular therapy in cervical cancer. *Rep Pract Oncol Radiother.* 2018 Nov-Dec;23(6):533-539. doi: 10.1016/j.rpor.2018.09.002. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30534017; PMCID: PMC6277350.
- Brisson M, Drolet M. Global elimination of cervical cancer as a public health problem. *Lancet Oncol.* 2019 Mar;20(3):319-321. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30072-5. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30795952.
- Pimple SA, Mishra GA. Global strategies for cervical cancer prevention and screening. *Minerva Ginecol.* 2019 Aug;71(4):313-320. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04397-1. Epub 2019 Feb 22. PMID: 30808155.
- Cervical Cancer Screening Every 5 Years OK. *Cancer Discov.* 2018 Oct;8(10):1204. doi: 10.1158/2159-8290.CD-NB2018-118. Epub 2018 Sep 11. PMID: 30206109.
- Rauh-Hain JA, Melamed A, Schaps D, Bregar AJ, Spencer R, Schorge JO, Rice LW, Del Carmen MG. Racial and ethnic disparities over time in the treatment and mortality

of women with gynecological malignancies. *Gynecol Oncol.* 2018 Apr;149(1):4-11. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.12.006. PMID: 29605048.

Rauh-Hain JA, Clemmer JT, Bradford LS, Clark RM, Growdon WB, Goodman A, Boruta DM 2nd, Schorge JO, del Carmen MG. Racial disparities in cervical cancer survival over time. *Cancer.* 2013 Oct 15;119(20):3644-52. doi: 10.1002/cncr.28261. Epub 2013 Jul 31. PMID: 23913530.

Shachner TR, Van Meter SE. Metastatic melanoma of the uterine cervix diagnosed on cervical Pap smear: Case report and literature review. *Diagn Cytopathol.* 2018 Dec;46(12):1045-1049. doi: 10.1002/dc.24058. Epub 2018 Oct 24. PMID: 30354020.

Spinner C, Ding L, Bernstein DI, Brown DR, Franco EL, Covert C, Kahn JA. Human Papillomavirus Vaccine Effectiveness and Herd Protection in Young Women. *Pediatrics.* 2019 Feb;143(2):e20181902. doi: 10.1542/peds.2018-1902. Epub 2019 Jan 22. PMID: 30670582; PMCID: PMC6361347.

Bukhari SIA, Truesdell SS, Lee S, Kollu S, Classon A, Boukhali M, Jain E, Mortensen RD, Yanagiya A, Sadreyev RI, Haas W, Vasudevan S. A Specialized Mechanism of Translation Mediated by FXR1a-Associated MicroRNP in Cellular Quiescence. *Mol Cell.* 2016 Mar 3;61(5):760-773. doi: 10.1016/j.molcel.2016.02.013. PMID: 26942679; PMCID: PMC4811377.

Vasudevan S, Steitz JA. AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell.* 2007 Mar 23;128(6):1105-18. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.038. PMID: 17382880; PMCID: PMC3430382.

Pitchiaya S, Heinicke LA, Park JI, Cameron EL, Walter NG. Resolving Subcellular miRNA Trafficking and Turnover at Single-Molecule Resolution. *Cell Rep.* 2017 Apr 18;19(3):630-642. doi: 10.1016/j.celrep.2017.03.075. PMID: 28423324; PMCID: PMC5482240.

Xiao M, Li J, Li W, Wang Y, Wu F, Xi Y, Zhang L, Ding C, Luo H, Li Y, Peng L, Zhao L, Peng S, Xiao Y, Dong S, Cao J, Yu W. MicroRNAs activate gene transcription epigenetically as an enhancer trigger. *RNA Biol.* 2017 Oct 3;14(10):1326-1334. doi: 10.1080/15476286.2015.1112487. Epub 2016 Feb 6. PMID: 26853707; PMCID: PMC5711461.

Mahmodul Hasan Sohel, Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges, Achievements in the Life Sciences, Volume 10, Issue 2, 2016, Pages 175-186, ISSN 2078-1520

Liu S, Zhang P, Chen Z, Liu M, Li X, Tang H. MicroRNA-7 downregulates XIAP expression to suppress cell growth and promote apoptosis in cervical cancer cells. *FEBS Lett.* 2013 Jul 11;587(14):2247-53. doi: 10.1016/j.febslet.2013.05.054. Epub 2013 Jun 4. PMID: 23742934.

Yue C, Wang M, Ding B, Wang W, Fu S, Zhou D, Zhang Z, Han S. Polymorphism of the pre-miR-146a is associated with risk of cervical cancer in a Chinese population. *Gynecol Oncol.* 2011 Jul;122(1):33-7. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.03.032. Epub 2011 Apr 29. PMID: 21529907.

Wang X, Wang HK, McCoy JP, Banerjee NS, Rader JS, Broker TR, Meyers C, Chow LT, Zheng ZM. Oncogenic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive miR-34a through viral oncoprotein E6. *RNA*. 2009 Apr;15(4):637-47. doi: 10.1261/rna.1442309. Epub 2009 Mar 3. PMID: 19258450; PMCID: PMC2661824.

Xu XM, Wang XB, Chen MM, Liu T, Li YX, Jia WH, Liu M, Li X, Tang H. **RETRACTED:** MicroRNA-19a and -19b regulate cervical carcinoma cell proliferation and invasion by targeting CUL5. *Cancer Lett*. 2012 Sep 28;322(2):148-58. doi: 10.1016/j.canlet.2012.02.038. Epub 2012 May 2. Erratum in: *Cancer Lett*. 2021 Oct 1;517:105. PMID: 22561557.

Au Yeung CL, Tsang TY, Yau PL, Kwok TT. Human papillomavirus type 16 E6 induces cervical cancer cell migration through the p53/microRNA-23b/urokinase-type plasminogen activator pathway. *Oncogene*. 2011 May 26;30(21):2401-10. doi: 10.1038/onc.2010.613. Epub 2011 Jan 17. PMID: 21242962.

Greco D, Kivi N, Qian K, Leivonen SK, Auvinen P, Auvinen E. Human papillomavirus 16 E5 modulates the expression of host microRNAs. *PLoS One*. 2011;6(7):e21646. doi: 10.1371/journal.pone.0021646. Epub 2011 Jul 1. PMID: 21747943; PMCID: PMC3128596.