

PATRYCJA KOPYTKO

JOANNA BUJAK

Katedra i Zakład Fizjologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
e-mail: patrycja.kopytko@op.pl

miRNA JAKO MARKER NOWOTWOROWY W DIAGNOSTYCE RAKA PIERSI

miRNA AS A TUMOR MARKER IN BREAST CANCER

STRESZCZENIE

MARKERY biologiczne należą do wskaźników stosowanych w badaniach medycznych. Wykorzystywane są do oceny stanów patologicznych oraz odpowiedzi organizmu na zastosowane leczenie. Idealny biomarker charakteryzuje się wysoką czułością i specyficznością, jak również niedrogą i szybką metodą oznaczenia. Istotną rolę we współczesnej diagnostyce molekularnej odgrywają microRNA (miRNA). miRNA to krótkie odcinki RNA, o długości ok. 21-25 nukleotydów. Kontrolują ekspresję genów, w wyniku czego oddziałują na wiele procesów biologicznych, w tym: proliferację, różnicowanie oraz apoptozę komórek. miRNA wykazują wiele cech charakterystycznych dla dobrego biomarkera. Istnieje grupa miRNA, która ma ścisły związek z onkogenezą. Cząsteczki te zgodnie z pełnioną przez siebie funkcją, zyskały miano oncomiRów (np. miR-15, miR-16, miR-21). OncomiRy bezpośrednio wpływają na transformację komórek oraz ich przerzutowanie. Większość komórek nowotworowych uwalnia miRNA do krwiobiegu, a ich ilość i profile uzależnione są od zaawansowania choroby. Nowotwór piersi należy do jednego z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u kobiet, w Polsce w 2015 roku wśród kobiet odnotowano 163 281 nowych przypadków zachorowań. Jednym z pierwszych zidentyfikowanych miRNA uczestniczących w karcynogenezie jest mir-16. Jego podwyższone stężenie może uczestniczyć w patomechanizmie nowotworu piersi. Ponadto

niektóre miRNA są zaangażowane w powstanie wrażliwości na stosowane leczenie. W przypadku nowotworu piersi nadekspresja: miR-155, miR-222, miR125b, miR-21 zwiększa oporność na stosowaną terapię. Obecny stan wiedzy dotyczący miRNA i ryzyka wystąpienia nowotworu piersi jest niewystarczający, żeby stosować je w standardowej diagnostyce. Niezbędne jest prowadzenie dalszych badań, gdyż miRNA mogą być wykorzystywane nie tylko, jako narzędzie pomocne przy diagnozowaniu pacjenta, lecz również w monitorowaniu odpowiedzi na leczenie oraz badaniu predyspozycji do wystąpienia nowotworów dziedzicznych.

SŁOWA KLUCZOWE: nowotwór piersi, biomarker, microRNA.

ABSTRACT

BIOLOGICAL markers are indicators used in medical research to evaluate pathological states and the response of the body to the treatment applied. An ideal biomarker is characterized by high sensitivity and specificity as well as an inexpensive and fast method of determination. MicroRNA (miRNA) plays an important role in modern molecular diagnostics. MiRNAs are short sections of RNA, about 21-25 nucleotides in length. They control gene expression, resulting in many biological processes, including: proliferation, differentiation and cell apoptosis. MiRNAs have many characteristics of good biomarkers. One

of the miRNA groups existing is closely related to oncogenesis. These molecules, in accordance with their functions, were named oncomiRs (eg miR-15, miR-16, miR-21). OncomiRs directly affects cell transformation and metastasis. Most tumor cells release miRNA into the bloodstream, their numbers and profiles depending on the severity of the disease. Breast cancer is one of the most common malignant neoplasms in women. In Poland 163.281 new cases were diagnosed in 2015. Mir-16 is one of the first identified miRNAs involved in carcinogenesis. Its elevated concentration may contribute to the pathomechanism of breast cancer. In addition, some miRNAs are involved in the development of sensitivity to treatment. In case of breast cancer overexpression of: miR-155, miR-222, miR125b, miR-21 increases the resistance to the therapy used. The current state of knowledge about miRNA and the risk of breast cancer is insufficient to use it in standard diagnostics. It is necessary to carry out further studies on miRNA as it could be used not only as a tool to help diagnose the patient, but in order to monitor the response to treatment and to test for predisposition to hereditary cancer.

KEY WORDS: breast cancer, biomarkers, microRNA.

WPROWADZENIE

Nowotwór określany jest jako nieskoordynowany i nieprawidłowy rozrost tkanek ustroju, który nie podlega fizjologicznym mechanizmom regulacyjnym homeostazę organizmu żywego (DOMAGAŁA, 2007). Proces karcynogenezy jest długi, skomplikowany i wieloetapowy. Dochodzi to rozregulowania cyklu komórkowego, procesu różnicowania komórek, jak również prawidłowej transdukcji sygnałów w licznych szlakach sygnalizacyjnych. W proces transformacji nowotworowej zaangażowanych jest wiele czynników zarówno genetycznych, jak i środowiskowych. Mutacje obejmują

głównie geny supresorowe oraz protoonkogeny (PADUCH I IN., 2003). Coraz więcej badań potwierdza, iż za proces nowotworzenia odpowiada także dysregulacja wzorców ekspresji genów (KULCZYCKA I IN., 2013). Choroba nowotworowa zyskała miano choroby cywilizacyjnej, zajmując drugie miejsce wśród głównych przyczyn zgonów w Polsce. W ciągu ostatnich dekad zachorowalność na nowotwory złośliwe w Polsce wzrosła ponad dwukrotnie. Dane z 2015 roku pokazują, iż odnotowano około 163 281 nowych przypadków pacjentów cierpiących na nowotwór. Wśród mężczyzn najczęściej rozpoznawany jest nowotwór płuca, rak gruczołu krokowego, rak jelita grubego oraz pęcherza moczowego. Statystyki prowadzone wśród pacjentek potwierdzają, iż u kobiet najczęściej diagnozowany jest nowotwór piersi, rak jelita grubego, rak płuca, jak również nowotwory trzonu macicy i jajnika. W ciągu ostatnich pięciu dekad odnotowano blisko 2,4-krotny wzrost zgonów na nowotwory złośliwe w Polsce (KRN, KRAJOWY REJESTR NOWOTWORÓW).

Problem nowotworów piersi dotyczy głównie kobiet, wśród mężczyzn rozpoznawany jest on bardzo rzadko (około 120 zachorowań rocznie). W większości przypadków nie jest możliwe ustalenie dokładnej etiologii choroby. Istnieje wiele czynników ryzyka, wśród których najistotniejszym wydaje się być wiek pacjentki (wraz z wiekiem, ryzyko zachorowania rośnie). Ponadto istotną rolę w rozwoju nowotworu piersi odgrywają: obecność mutacji niektórych genów, między innymi BRCA1 oraz BRCA2, występowanie raka piersi w rodzinie pacjentki, wczesny wiek pierwszej menstruacji, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej, wystąpienie menopauzy w późnym wieku, promieniowanie jonizujące (JASSEM I IN., 2013). Najczęściej rozpoznawanym typem jest nowotwór rozwijający się w przewodach mlekowych, tzw. rak przewodowy, na drugim miejscu plasuje się rak zrazikowy. Jednym z największych prob-

lemów dotyczących nowotworu piersi jest jego późna diagnostyka. Pacjenci często zgłaszają się do lekarza z bardzo zaawansowanym procesem chorobowym, kiedy to postawienie rozpoznania oraz wdrożenie odpowiedniego leczenia daje minimalne szanse na całkowitą remisję choroby. Fakty te przekładają się na bardzo wysokie współczynniki umieralności, gdzie blisko 33% przypadków zakończonych jest zgonem. Warto więc podkreślić, jak ważna jest prewencja w przypadku chorób nowotworowych (BOJAKOWSKA I IN., 2016).

Diagnostyka przesiewowa pozwala na szybkie wykrycie danego typu nowotworu, zastosowanie odpowiedniej terapii, poprawę komfortu życia pacjenta, a często nawet 100% wyleczenie choroby podstawowej. Profilaktyka wtórna powinna obejmować samobadanie piersi, wykonywanie profilaktycznych badań kontrolnych, w tym badanie palpacyjne przeprowadzone przez lekarza oraz USG piersi. Metodą przesiewową, która jako jedyna w istotny sposób wpływa na zmniejszenie odsetka umieralności jest mammografia. Rekomenduje się wykonywanie jej co 2 lata w wieku 45-50 lat, później badanie to należy przeprowadzać raz w roku (AMERICAN CANCER SOCIETY).

Diagnostyka raka piersi obejmuje zarówno badanie przedmiotowe, jak i podmiotowe uzupełnione o wywiad rodzinny, przeprowadzenie szeregu testów laboratoryjnych, wykonanie badań obrazowych oraz patomorfologicznych (JASSEM I IN., 2013). Leczenie uzależnione jest od wielu zmiennych, w tym typu histologicznego nowotworu i stadium zaawansowania choroby. Terapia zazwyczaj jest wieloetapowa, obejmuje skojarzenie metod chirurgicznych, chemioterapii, radioterapii, hormonoterapii, jak również molekularnych metod ukierunkowanych (JASSEM I IN., 2009).

— MARKERY BIOLOGICZNE —

WZROST liczby diagnozowanych przypadków licznych nowotworów w Polsce i na

świecie, sprawił, iż problem ten zyskał rangę problemu społecznego i ekonomicznego. Co roku na świecie prowadzi się wiele badań mających na celu opracowywanie nowych markerów diagnostycznych, które pomogłyby szybko i specyficznie wykryć daną chorobę (KALINOWSKI I IN., 2013)

Idealny marker biologiczny powinien być wysoce czuły, swoisty oraz specyficzny (RECHCIŃSKI, 2013). Niezbędne jest, aby był w stanie zmierzyć daną cechę w sposób obiektywny, co daje możliwość rzetelnej oceny stanu organizmu (między innymi toczących się stanów patologicznych). Kolejną zaletą powinien być stosunkowo długi okres półtrwania oraz łatwa i tania metoda jego oznaczania (BUJAK I IN., 2017). Największą wartość mają biomarkery, które pozwoliłyby wykryć dany stan chorobowy, wzrastałyby proporcjonalnie w momentach toczącego się procesu patologicznego oraz posiadały charakter predykcyjny (SOBORCZYK I IN., 2007).

Ciągłe poszukiwania nowych markerów diagnostycznych pozwalają twierdzić, iż jednymi z bardziej obiecujących kandydatów służących do detekcji chorób nowotworowych mogą okazać się microRNA (miRNA) (MYTYCH, 2012).

— microRNA —

PIERWSZE wzmianki o microRNA (miRNA) pochodzą z lat 90, kiedy to przeprowadzono badania dotyczące cyklu rozwojowego *Caenorhabditis elegans*. Dowiedziono, iż za prawidłową progresję do kolejnych stadiów larwalnych odpowiadają cząsteczki lin-4 oraz let-7 (uznane w kolejnych latach za miRNA) (MYTYCH, 2012). Liczne badania dotyczące miRNA pozwoliły na odkrycie ponad trzech tysięcy tych cząsteczek, które występują u kręgowców, grzybów, wirusów, roślin, jak również jednokomórkowych organizmów. U człowieka opisanych zostało około

470 microRNA, jednak przypuszcza się, iż w rzeczywistości jest ich znacznie więcej (LI I IN., 2007). MicroRNA to stosunkowo krótkie, jednoniciowe cząsteczki RNA, które wywodzą się z prekursorów dwuniciowych, najczęściej ich długość mieści się pomiędzy 21 a 23 nukleotydami (SZELAĞ I IN., 2016). Zbadano, iż są one w stanie regulować ekspresję około 30% genów w organizmie, w tym jeden miRNA może oddziaływać na nawet 200 genów.

Wielofunkcyjność i wielokierunkowość działania microRNA podkreśla ich niezbędną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Cząsteczki te działają jako regulatory różnicowania komórek szkieletowych, układu krwiotwórczego oraz adipocytów, sprawują kontrolę nad podziałami komórkowymi, programowaną śmiercią komórek (GRENDA I IN., 2012). Ponadto uczestniczą w procesach zapalnych, odpornościowych, także regulują gospodarkę insulinową organizmu (HUKOWSKA-SZEMATOWICZ I IN., 2010). Wiele badaczy podkreśla, iż miRNA odpowiadają nie tylko za regulację procesów fizjologicznych organizmu, mogą również inicjować i przyspieszać procesy patologiczne, w tym transformację nowotworową, rozwój choroby Alzheimerera (BEKRIS LM. I IN., 2015) oraz cukrzycy (TIWARI I IN., 2017).

Geny kodujące microRNA umiejscowione są w intronach, eksonach oraz regionach nieczynnych translacyjnie (ISIK I IN., 2010). Początkowym produktem transkrypcji jest przyjmujący kształt spinki do włosów pri-miRNA, a proces jego powstawania zachodzi dzięki obecności polimerazy RNA II. Następnie pod wpływem działania rybonukleazy Drosha oraz białka DGCR8 dochodzi do obróbki pri-miRNA w jądrze komórkowym, gdzie w konsekwencji formowany jest pre-miRNA. Kolejno pre-miRNA dzięki eksportynie 5 jest przenoszony do cytoplazmy. Enzym Dicer umożliwia formowanie dupleksu miRNA (około 22 nukleotydy), następuje rozdzielenie na dwie nici,

jedna dołączana jest do kompleksu RISC hybrydując do mRNA docelowego. W efekcie może dojść do rozcięcia mRNA albo zahamowania translacji (MYTYCH, 2012). Potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów miRNA zachodzi przy pomocy komplementarności par zasad z informacyjnym RNA (WIENHOLDS I IN., 2005). Wyciszanie ekspresji genów może odbywać się dwojako: poprzez degradację danego mRNA lub w efekcie zahamowania translacji (GRENDA I IN., 2013).

microRNA

— IDEALNYM KANDYDATEM —

NA MARKER NOWOTWOROWY?

ONCOMIRY, to grupa miRNA, która wykazuje ścisłą korelację z karcynogenezą. Mogą pełnić one zarówno rolę supresora nowotworowego, jak i onkogenu. Do znanych oncomiRów można zaliczyć między innymi: miR-155, miR-569, miR-15, miR-16 oraz miR-21 (BUJAK I IN., 2017).

Wiele badań potwierdza, iż miRNA mogą pretendować do bycia doskonałymi markerami wielu chorób, w tym chorób nowotworowych. Przemawiają za tym fakty, iż wiele ze znanych microRNA wykazują specyficzność tkankową, a zmiana ich stężenia znacznie różni się w tkankach zdrowych i zmienionych chorobowo (LUJAMBO I IN., 2008). Można twierdzić, iż w przyszłości określanie panelu stężeń microRNA, następnie analiza zależności między stanem zdrowia pacjenta a ilością miRNA, może mieć wysoką wartość diagnostyczną i predykcyjną dotyczącą przeżycia, a także określenia rokowania i ustalenia terapii. Takie podejście byłoby ściśle spersonalizowane dla danego pacjenta, co znacznie zwiększałoby zwiększać prawdopodobieństwo remisji choroby (BUDZYŃSKI I IN., 2014). Odkryto, iż rodzina miR-183 jest zaangażowana w patogenezę niedrobnokomórkowego no-

wotworu płuca, obserwuje się podwyższone stężenie tych cząsteczek zarówno w surowicy krwi pacjentów, jak i tkance guza (ZHU I IN., 2011).

W przypadku raka jelita grubego pomocne może okazać się oznaczanie stężenia mir-92 oraz mir-17-3p w osoczu pacjentów. Udowodniono, iż u osób z rozpoznany nowotworem jelita grubego widoczna jest podwyższona ilość tych cząsteczek. Ponadto, resekcja chirurgiczna guza skutkuje znacznym obniżeniem stężeń badanych microRNA (NG I IN., 2009).

miRNA JAKO MARKER NOWOTWORU PIERSI

CORAZ większym zainteresowaniem naukowców cieszą się badania nad miRNA jako potencjalnych markerów chorób nowotworowych. Markery oznaczane w przypadku chorych na nowotwór piersi są mało specyficzne, a ich rola w postawieniu prawidłowej diagnozy i monitorowaniu stanu chorego jest tylko pomocnicza. Najczęściej oznaczanym markerem w raku piersi jest CA 15-3, CEA, TAG (glikoproteina towarzysząca nowotworom), MSA (tzw. surowiczy antygen sutka). Niewielka czułość oznaczeń tych cząsteczek ogranicza ich przydatność diagnostyczną (ŁAWICKI I IN., 2004).

Jednym z pierwszych microRNA, którego udział potwierdzono w patomechanizmie nowotworu piersi jest miR-16. Naukowcy zaobserwowali podwyższoną ilość miR-16 w surowicy kobiet cierpiących na nowotwór piersi w porównaniu do grupy kontrolnej. Kolejna analiza stężenia miR-16 odbyła się po zastosowaniu chemioterapii, odnotowano wtedy znaczną redukcję poziomu badanego miRNA (STUCKRATH I IN., 2015).

Kolejnymi przykładami miRNA, których ekspresja jest nieprawidłowa są: miR-125b, miR-10b, miR-21, miR-145 oraz miR-155. Cząsteczki miR-10b, miR-125b i miR-

145 posiadają zdolności supresorowe, a ich ekspresja w raku piersi jest znacznie obniżona. Odwrotna sytuacja ma miejsce z regulacją miR-21 i miR-155, które to ulegają nadekspresji w nowotworze piersi, co może przyczyniać się do zyskiwania funkcji onkogennych (SCOTT I IN., 2007.).

NADEEMI I IN. przeprowadzili badanie na 209 kobietach, wśród których 139 pacjentek miało zdiagnozowany nowotwór piersi, a 70 stanowiło zdrowe kobiety. Wykonanie ilościowych testów PCR pozwoliło na ocenę stężenia miR-195 w osoczu. W grupie badanej odnotowano znaczne obniżenie stężenia miR-195 u 72,6 % pacjentek. Pozostałe 27,3% kobiet miało taki sam poziom miR-195 jak zdrowe kontrole. Ponadto badacze zauważyli istotną korelację niskiej ekspresji miR-195 z wyższym stadium choroby oraz występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych. Zatem można twierdzić, iż miR-195 jest potencjalnym nieinwazyjnym biomarkerem molekularnym do wczesnego wykrywania raka piersi (NADEEM, 2017).

HIRONAKA-MITSUHASHI I IN. wykonali analizę stężeń miRNA przy pomocy mikromacierzy na wytypowanych 45 pacjentkach z nowotworem piersi w wieku poniżej 35 lat. Kobiety podzielono na dwie grupy: osoby z nawrotem choroby w ciągu 5 lat od operacji (11 pacjentek) oraz kobiety, u których w ciągu 5 lat od zabiegu chirurgicznego obserwowano remisję choroby (34 pacjentki). Wyodrębniono 9 miRNA, które wykazywały różne stężenia pomiędzy dwoma grupami. Badaczom udało się zidentyfikować trzy microRNA (miR-183-5p, miR-194-5p i miR-1285-5p) o potencjalnym znaczeniu prognostycznym u młodych osób z nowotworem piersi. Informacje te mogą umożliwić wybór lepszych opcji leczenia dla młodych kobiet z tą chorobą (HIRONAKA-MITSUHASHI I IN., 2017).

Kolejne badania potwierdzają wartość prognostyczną oraz diagnostyczną miR-16.

Cząsteczka ta ma potencjał na zostanie biomarkerem dziedzicznego raka piersi. Naukowcy postanowili sprawdzić czy istnieje korelacja pomiędzy stężeniem miR-16, a stanem zdrowia kobiet z rozpoznany nowotworem przewodowym, ich zdrowych córek, trzecią grupę stanowiły zdrowe, niespokrewnione z grupą badaną kobiety. Udowodniono, iż osoby z rakiem przewodowym wykazują nadekspresję miR-16. W przypadku ich córek odnotowano niskie ilości miR-16, a u kobiet zdrowych ekspresja badanego microRNA była praktycznie nieoznaczalna. Można więc przypuszczać, iż oznaczenie ilości miR-16 w przyszłości będzie elementem profilaktyki wtórnej oraz programów przesiewowych raka piersi (USUMANI I IN., 2017).

LEE I IN. dowiedli, iż wysokie aktywności let-7d i miR-18a są związane z lepszymi wynikami przeżycia w przypadku raka piersi ER- / HER2- (LEE I IN., 2016). Kolejne badania pozwoliły na wyodrębnienie miR-500a jako kluczowego prognostycznego microRNA dla nowotworu piersi ER+. Jego aktywność jest ściśle związana z przeżyciem pacjentów (AUSHEV I IN., 2017).

MicroRNA mogą pełnić pomocniczą rolę w stosowanych dotąd terapii antynowotworowych. Udowodniono, że podwyższony poziom miR-125b, miR-155, miR-222, a także miR-21 zwiększa oporność na terapię cyklofosfamidem, miR125b i taksanami (BUJAK I IN., 2017).

PODSUMOWANIE

MicroRNA spełniają wiele warunków dobrego markera biologicznego. Oznaczanie stężeń miRNA może okazać się doskonałym narzędziem diagnostycznym służącym ocenie między innymi zaawansowania procesu chorobowego, ustalania odpowiedniej terapii, monitorowania skuteczności leczenia, a także ocenie rokowania. Do tej pory nie opracowano

jeszcze ściśle określonych „biomarkerów miRNA”, które mogłyby specyficznie rozpoznawać dany stan chorobowy. Dlatego konieczne jest dalsze zgłębianie wiedzy i poszukiwanie nowych microRNA, które będą w sposób obiektywny oceniały zarówno procesy fizjologiczne i patologiczne w organizmie.

LITERATURA

DOMAGAŁA W. 2007. Podstawy karcynogenezy i ścieżki sygnałowe niektórych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Pol. Przegl. Neurol. 3(3), 127-141.

PADUCH R., KLATKA J. 2003. Markery nowotworowe. Onkol. Pol. 6(2), 77-82.

KULCZYCKA A., BEDNAREK I., DZIERŻEWICZ Z. 2013. Modyfikacje epigenetyczne jako potencjalne cele terapii antynowotworowych. Ann. Acad. Med. Siles. 67(3), 201-208.

KRAJOWY REJESTR NOWOTWORÓW: www.onkologia.org.pl. Data dostępu: 06.04.2018.

JASSEM J., KRZAKOWSKI M., BOBEK-BILLEWICZ B., DUCHNOWSKA R., JEZIORSKI A. 2013. RAK PIERSI. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych — 2013 r. 213-257.

BOJAKOWSKA U., KALINOWSKI P., KOWALSKA M. A. 2016. Epidemiologia i profilaktyka raka piersi. Journal of Education, Health and Sport. 6(8), 701-710.

AMERICAN CANCER SOCIETY recommendations for early breast cancer detection in women without breast symptoms: <http://www.cancer.org>. Data dostępu: 17.11.2017.

- JASSEM J., KRZAKOWSKI M. 2009. Rak piersi. Praktyczny przewodnik dla lekarzy. Via Medica. Gdańsk. 230-284.
- KALINOWSKI P., BOJAKOWSKA U. 2013. Epidemiologia i analiza czynników ryzyka raka piersi [W]: W drodze do brzegu życia: praca zbiorowa. KRAJEWSKA-KUŁAK E., ŁUKASZUK R., LEWSKO J. Uniwersytet Medyczny w Białymstoku. Białystok. 341-349.
- RECHCIŃSKI T. 2013. Nowe biomarkery w chorobach serca i naczyń. *Kardiol Dypł.* 12, 11-15.
- BUJAK J., KOPYTKO P., LUBECKA M. 2017. miRNA markerami chorób nowotworowych. *Nauka, Badania i Doniesienia Naukowe.* 269-277.
- SOBORCZYK A., DEPTAŁA A. 2007. Markery nowotworowe w praktyce klinicznej. *Choroby Serca i Naczyń.* 4(4), 184-189.
- MYTYCH J. 2012. Niewielkie, a znaczące – rola microRNA w powstawaniu i detekcji oraz leczeniu nowotworów na przykładzie nowotworu żołądka. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie.* 3, 366-372
- LI S. C., TANG P., LIN W. C. 2007. Intronic micro-RNA: Discovery and biological implications. *DNA Cell Biol.* 4, 195-207.
- SZELAĞ S., KURZAWSKI M. 2016. Rola mikroRNA w patogenezie i przebiegu chorób wątroby. *Pomeranian J Life Sci.* 62, 3, 5-15.
- GRENDA A., BUDZYŃSKI M., FILIP AA. 2013. Biogeneza cząsteczek mikroRNA oraz ich znaczenie w powstawaniu i przebiegu wybranych zaburzeń hematologicznych. *Postepy Hig Med Dosw (online).* 67, 174-185.
- HUKOWSKA - SZEMATOWICZ B., DEPTUŁA W. 2010. Biologiczna rola microRNA (miRNA). *Nowe dane.* *Post Biol Kom.* 3, 585-597.
- BEKRIS LM., LEVERENZ JB. 2015. The biomarker and therapeutic potential of miRNA in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis Manag.* 5, 1, 61-74.
- TIWARI J. GUPTA G., DE JESUS ANDREOLI PINTO T., SHARMA R., PABREJA K., MATTA Y., ARORA N., MISHRA A., SHARMA R., DUA K. 2017. Role of microRNAs (miRNAs) in pathophysiology of diabetes mellitus *Panminerva Med.* doi: 10.23736/S0031 0808.17.03382-1.
- ISIK M., KORSWAGEN HC., BEREZIKOV E. 2010. Expression patterns of intronic microRNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Silence.* 1, (1), 5.
- WIENHOLDS E., PLASTERK RH. 2005. MicroRNA function in animal development. *FEBS Lett.* 31, 579(26), 5911-22.
- LUJAMBO A., CALIN GA., VILLANUEVA A., ROPERO S., SANCHEZ-CESPEDES M., BLANCO D., MONTUENGA LM., ROSSI S., NICOLOSO MS., FALLER WJ., GALLANGER WM., ECCLES SA., CROCE CM., ESTELLER M. 2008. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 9; 105(36), 13556-61.
- BUDZYŃSKI M., GRENDA A., FILIP AA. 2014. Cząsteczki mikroRNA jako istotny składnik mechanizmów regulacji ekspresji genów związanych z nowotworami. *NOWOT-*

Postepy Hig Med Dosw (online). 67, 174-185.

HUKOWSKA-SZEMATOWICZ B., DEPTUŁA W. 2010. Biologiczna rola miRNA (miRNA). Nowe dane. Post Biol Kom. 3, 585-597.

BEKRIS LM., LEVERENZ JB. 2015. The biomarker and therapeutic potential of miRNA in Alzheimer's disease. Neurodegener Dis Manag. 5, 1, 61-74.

TIWARI J., GUPTA G., DE JESUS ANDREOLI PINTO T., SHARMA R., PABREJA K., MATTA Y., ARORA N., MISHRA A., SHARMA R., DUA K. 2017. Role of microRNAs (miRNAs) in pathophysiology of diabetes mellitus Panminerva Med. doi: 10.23736/S0031 0808.17.03382-1.

ISIK M., KORSWAGEN HC., BEREZIKOV E. 2010. Expression patterns of intronic microRNAs in *Caenorhabditis elegans*. Silence. 1, (1), 5.

WIENHOLDS E., PLASTERK RH. 2005. MicroRNA function in animal development. FEBS Lett. 31, 579(26), 5911-22.

LUJAMBO A., CALIN GA., VILLANUEVA A., ROPERO S., SANCHEZ-CESPEDES M., BLANCO D., MONTUENGA LM., ROSSI S., NICOLOSO MS., FALLER WJ., GALLANGER WM., ECCLES SA., CROCE CM., ESTELLER M. 2008. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. Proc Natl Acad Sci USA. 9; 105(36), 13556-61.

BUDZYŃSKI M., GREŃDA A., FILIP AA. 2014. Cząsteczki mikroRNA jako istotny składnik mechanizmów regulacji ekspresji genów związanych z nowotworami. NOWOT-

2017. A tissue microRNA signature that predicts the prognosis of breast cancer in young women. PLoS One., 15, 12(11):e0187638

USUMANI A., SHORO AA., SHIRAZI B., MEMON Z., HUSSAIN M. 2017. MiR-16: A novel hereditary marker in breast cancer and their offspring. J Pak Med Assoc. 67, 3, 446-450.

LEE E., ITO K., ZHAO Y., SCHADT EE., IRIE HY., ZHU J. 2016. Inferred miRNA activity identifies miRNA-mediated regulatory networks underlying multiple cancers. Bioinformatics. 1, 32(1), 96-105

AUSHEV VN., LEE E., GOPALAKRISHNAN K., LI Q., TEITELBAUM S.L., WETMUR SL., DEGLI ED., HERNANDEZ-VARGAS H., HERCEG Z., PARADA H., SANTELLA RM., GAMMON M. D. Novel predictors of breast cancer survival derived from miRNA activity analysis. Clin Cancer Res. 14. pii: clincanres.0996.2017. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0996.