

## میکروRNAهای گردشی، بیومارکرهای ارزشمند در مایعات بیولوژیک بدن

**مجید خوش میرصفا:** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، انستیتو ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. khoshmirsafa.m@tak.iums.ac.ir

**فرهاد سیف:** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، انستیتو ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. farhad.seif@outlook.com

**منیره محسن زادگان:** گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. monirehmohsenzadegan@gmail.com

**محمد نجفی:** گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. nbsmmsbn@iums.ac.ir

**کبری مختاریان:** مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. k.mokhtarian@yahoo.com

**\*مهدی شکرابی:** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، انستیتو ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (\*نویسنده مسئول). m\_shekarabi@yahoo.com, shekarabi.m@iums.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۳

### چکیده

میکروRNAها توالی‌های به شدت حفاظت شده و تک رشته‌ای، با طولی در حدود ۱۸-۲۵ نوکلئوتید هستند. نقش بسیار مهم میکروRNAها در تنظیم بیان ژنوم پس از مرحله رونویسی mRNA به اثبات رسیده است. در مطالعات متعددی از جمله بدخیمی‌ها و بیماری‌های خودایمن تغییرات در بیان میکروRNAها در سلول‌ها و بافت‌ها و ارتباط آن‌ها با بیماری نشان داده شده است. میکروRNAها علاوه بر درون سلول در مایعات بدن در ترکیب با لیپوپروتئین‌ها و یا محصور در بسته بندی‌هایی از غشاء دولا به نام آگزوزوم وجود دارند. در مایعات مختلف بدن مانند سرم و ادرار علی‌رغم حضور ریبونوکلئازهای فراوان میکروRNAهای گردشی پایدار بوده و قابل اندازه‌گیری به صورت کمی نیز می‌باشند. در چند سال اخیر، بررسی میکروRNAها گردشی در مایعات بیولوژیک بدن پنجره‌ای جدید از پژوهش‌ها، برای یافتن بیومارکرهایی جدید، بی‌خطر و غیرتهاجمی را در علم پزشکی گشوده است. هدف از نگارش مقاله مروری فوق، بررسی و تشریح بیان میکروRNAها در مایعات بیولوژیک بدن و علاوه بر آن توصیف مطالعات اخیر انجام گرفته در این زمینه برای شناخت و معرفی بیومارکرهایی کارآمد در تشخیص و پیگیری درمان در بیماری‌های مختلف است.

**کلیدواژه‌ها:** میکروRNA، میکروRNAهای گردشی، مایعات بیولوژیک، بیومارکرها

### مقدمه

این در حالی است که تا قبل از سال ۲۰۱۳ در حدود ۲۸۰۰ میکروRNA به ثبت رسیده بود. در حال حاضر با استفاده از تکنولوژی تعیین توالی و علوم بیوانفورماتیک احتمال وجود بیش از ۳۰۰۰ جایگاه جدید دیگر برای میکروRNA در ژنوم انسان پیش‌بینی شده است و به زودی تعداد میکروRNAهایی که وجودشان از نظر عملکردی به اثبات می‌رسد به مراتب بیشتر خواهد شد (۶). هر میکروRNA می‌تواند چندین mRNA را مورد هدف قرار دهد؛ بدین ترتیب میکروRNAها نقش شگرفی در تنظیم فعالیت‌های سلول ایجاد خواهند نمود (۷). عملکرد میکروRNAها در تنظیم پاسخ‌های ایمنی، تکامل عصبی، تعمیر DNA، آپوپتوز، پاسخ در شرایط استرس‌های اکسیداتیو،

میکروRNAها توالی‌هایی تک‌رشته‌ای کوتاه با اندازه‌ای در حدود ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند (۱) و بخش عمده و مهمی از تنظیم بیان ژن‌ها، به نام تغییرات اپیژنتیک را به عهده دارند (۲ و ۳). میکروRNAها بر پایداری mRNA، محصول رونویسی شده از ژن اثر گذاشته و سبب تغییرات گسترده در بیان محصول نهایی و عملکردی ژن‌ها می‌شوند (۴). تعداد میکروRNAهای کشف شده در مقابل تعداد ژن‌ها بسیار کمتر است. برآوردهای اولیه در تخمین تعداد ژن‌های ژنوم انسان در حدود یک صد هزار ژن بود، البته تا به امروز این رقم دستخوش اصلاحات فراوان شده و به چیزی در حدود ۲۲/۰۰۰ ژن کاهش پیدا کرده است (۵).

مختلف به نام میکروزیکول یا نانوزیکول (اگزوزوم) می‌باشد (۲۱ و ۲۲). همانند mRNA، بیان میکروRNAها در بافت‌های مختلف محدود و دارای الگویی خاص آن بافت (signature) می‌باشد (۲۰). به‌طور مثال miR-122 در بافت کبد و miR-124 در بافت عصبی فراوان تر از سایر بافت‌ها بیان می‌شوند (۲۳). در شرایط سلامت و پایدار، نیز مقدار و ترکیب (الگو) میکروRNAهای گردشی (circulating microRNA) در مایعات بدن ثابت، منظم و دارای الگوی بیانی خاص می‌باشد. هر گونه تغییرات فیزیولوژیک و یا پاتوفیزیولوژیک مانند التهاب و عفونت، خودایمی و یا سرطان نیز می‌تواند سبب تغییر در بیان پروفایل میکروRNAها و تغییر الگوی بیان در مایعات بدن شود (۲۴ و ۲۵). بررسی میکروRNAهای گردشی در مایعات بدن با توجه به پایداری در نمونه‌ها، الگوی منظم بیانی (اختصاصیت) و حساسیت در اندازه‌گیری به خصوص روش‌هایی که قابلیت تمایز حتی یک نوکلئوتید در تعداد کم کپی‌های نمونه را دارند سبب مطرح شدن بالقوه میکروRNAها به عنوان بیومارکرهای ارزشمند در تشخیص بیماری‌ها و بدخیمی‌ها شده است (۱۵ و ۲۶). در مطالعات بسیاری میکروRNAهای گردشی در مایعات بدن به عنوان بیومارکرهای بالقوه ارزشمند در تشخیص بیماری، تعیین پیش‌آگهی و ارگان درگیر، پیگیری موفقیت در روند درمان مورد توجه و بررسی قرار گرفته‌اند (۲۶).

با توجه به اهمیت و کاربرد این مقوله در علوم پزشکی، هدف مقاله مروری حاضر، توصیف، بررسی و بحث پیرامون مطالعات انجام گرفته بر روی میکروRNAهای گردشی در مایعات بیولوژیک بدن در رابطه با شناسایی و معرفی بیومارکرهای جدید در بیماری‌های مختلف است. با توجه به اهمیت نمونه‌های سرم، بزاق و ادرار به علت دسترسی بهتر، غیرتهاجمی بودن و محتوای نوکلئوتیدی مناسب، تمرکز این مقاله بیشتر در پژوهش‌های انجام شده برای یافتن بیومارکری حساس و قابل اعتماد در نمونه‌های فوق‌الذکر می‌باشد.

هیپوکسی بافتی، التهاب، تب، عفونت و بسیاری دیگر از فعالیت‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک به اثبات رسیده است (۸). با این حال عملکرد دقیق و اختصاصی میکروRNAها به‌صورت کامل و دقیق مشخص نشده است. چرا که می‌بایست برای نواختن یک ضرب‌آهنگ فعالیت فیزیولوژیک خاص در سلول، آرکسترسمفونی میکروRNAها به‌صورت شبکه‌ای پیچیده ولی منظم درکنار یکدیگر عمل کنند (۹-۱۱). فعالیت شبکه میکروRNA در سلول‌های بازیگر در پاسخ‌های ایمنی به مراتب وسیع‌تر بوده و تخمین زده می‌شود که بیش از دوسوم تنظیم و تغییرات بیان ژن‌ها وابسته به تنظیم میکروRNAها می‌باشد (۱۲).

غیرتهاجمی بودن (Noninvasive)، روش حساس و مقرون به‌صرفه برای اندازه‌گیری، پایداری در نمونه، اختصاصیت برای تشخیص بیماری، شناسایی قبل از ظهور علائم بیماری، قابل استناد و ترجمه از مدل‌های حیوانی به انسان، از ویژگی‌هایی است که برای یک بیومارکر مطلوب می‌توان ذکر نمود (۱۳ و ۱۴). در حال حاضر اکثر بیومارکرهای مورد استفاده ساختار پروتئینی دارند (آنزیمی و یا آنتی‌ژن‌های پروتئینی) و بررسی پروتئین‌ها در نمونه‌های بالینی نیز با دشواری و محدودیت‌هایی همراه است. از جمله این مخاطرات می‌توان به تغییرات پس از ترجمه، حضور مقدار کم پروتئین مورد نظر در بین پروتئین‌های فراوان نمونه، روش‌های بررسی با حساسیت و اختصاصیت متفاوت (۱۵ و ۱۶) اشاره نمود که سبب شده سایر ترکیبات مولکولی نیز به عنوان بیومارکر در نمونه‌های بالینی مورد توجه قرار گیرند (۱۷-۱۹).

درسال‌های اخیر نشان داده شد که بسیاری از میکروRNAهای درون سلول و یا بافت‌ها به‌صورت خارج سلولی و در مایعات بیولوژیک بدن نظیر پلاسما، ادرار و بزاق یافت می‌شوند (۲۰). بررسی‌های مختلف حاکی از ترشح هدفمند و منظم این میکروRNAها به‌صورت آزاد، ترکیب با برخی از پروتئین‌ها و یا محصور در بسته‌بندی‌هایی از غشاء دولاویه (وزیکول) در اندازه‌های

### میکروRNAها و مایعات بیولوژیک

مایعات بیولوژیک در بدن انسان شامل پلاسما (سرم)، ادرار، بزاق، اشک، مایع مغزی نخاعی (CSF)، مایع پلور، خلط، مایع منی، مایع آمینوتیک، شیر، آغوز، عرق، مایع حاصل از شستشوی ریه (Broncho Alveolar Lavage- BAL) می‌باشند. با توجه به کارایی و بازده کم روش‌های استخراج RNA از مایعات؛ بمراتب غلظت میکروRNAها که قسمتی از RNA تام نمونه می‌باشند، نیز کمتر می‌باشد. تعیین غلظت و کیفیت میکروRNAها و همچنین تمایز آن‌ها از قطعات نوکلئوتیدی تخریب شده RNA نیز از دیگر دشواری‌ها در جداسازی و استخراج میکروRNAها از مایعات بدن می‌باشد (۲۷). فارغ از تکنیک استخراج، مقدار RNA تام استخراج شده از مایعات بیولوژیک بسیار متنوع است. مقدار RNA تام اندازه‌گیری شده در برخی نمونه‌ها نظیر مایع مغزی نخاعی (CSF) بسیار کم و در حدود ۱۰۰ میکروگرم در لیتر ( $\mu\text{g/L}$ ) است و در برخی نمونه‌های دیگر مانند شیر تا ۵۰/۰۰۰ میکروگرم در لیتر ( $\mu\text{g/L}$ ) می‌رسد. وجود برخی مداخله کننده‌ها برای استخراج در مایعات بیولوژیک به ویژه در نمونه ادرار نیز سبب پایین آمدن کارایی استخراج می‌شود. به‌طور کلی ادرار، مایع مغزی نخاعی و اشک حاوی مقدار کمتری RNA تام نسبت به سایر مایعات بدن هستند (۲۸ و ۲۹). از حیث تنوع و تعداد میکروRNAهای مختلف در مایعات بیولوژیک، به‌طور شگفت‌انگیزی بزاق حاوی بیشترین تنوع در میکروRNAها است (۲۸ و ۳۰)، به‌طوری‌که از پلاسما و حتی شیر که حاوی بیشترین غلظت RNA تام استخراج شده می‌باشند، نیز تنوع بیشتری در تعداد میکروRNAهای بزاقی وجود دارد. همچنین تنوع کمتری از میکروRNA در نمونه‌های ادراری، مایع مغزی نخاعی، مایع پلور (جنب) و مایع حاصل از شستشوی برونش‌ها (BAL) نسبت به سایر نمونه‌ها گزارش شده است (۲۸ و ۳۱).

به دلایل نامشخص و به‌طور قابل‌توجهی مقدار چند میکروRNA در مایعات بدن از سایر نمونه‌ها بیشتر است. با اینکه منبع این میکروRNAها

به‌طور دقیق مشخص نشده است ولی حضور این میکروRNAها می‌تواند حاکی از عملکرد فیزیولوژیک و مشترک آن‌ها باشد (۳۲). این در حالی است که برخی از میکروRNAها به‌صورت اختصاصی در برخی از مایعات بدن یافت می‌شوند، به‌طوری‌که در سایر مایعات گزارش نشده و یا مقدار آن‌ها در آستانه اندازه‌گیری روش‌های حال حاضر نیست. از نظر تنوع در میکروRNAها منحصر بفرد، پلاسما از تنوع بیشتری برخوردار است (۳۳). تاکنون در حدود ۲۰ میکروRNA در سرم گزارش شده که در سایر مایعات بدن یافت نشده است. از جمله می‌توان به miR-224، miR-483-3p، miR-518f و miR-182 اشاره نمود (۳۴). البته به علت وجود سلول‌های متعدد در خون کامل که می‌تواند محتوای پلاسما را آلوده کند، می‌بایست در هنگام جدا سازی مراقبت‌های ویژه مانند عدم به کارگیری سرعت بالا در سانتریفوژ، دمای مناسب و زمان کوتاه برای جدا نمودن سلول‌ها از پلاسما را رعایت نمود. با استفاده از میکروRNAهای اختصاصی در سلول‌های خونی می‌توان از صحت آلوده نشدن پلاسما با میکروRNAهای سلولی اطمینان حاصل نمود. به‌طور مثال حضور miR-451 در پلاسما نشانه لیز گلبول‌های قرمز و علامتی از حضور سایر میکروRNAهای گلبول قرمز در نمونه سرم است. در همین ارتباط، چاه و همکاران در سال ۲۰۱۶ روش‌های مختلف بررسی همولیز در سرم را مقایسه نموده و نشان دادند که اندازه‌گیری miR-451 در سرم روش حساس‌تری نسبت به خوانش سرم در طول موج ۴۱۴ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر است (۳۵).

مقدار میکروRNA در نمونه ادرار، پایین است و تاکنون در شرایط سلامت، میکروRNAی اختصاصی در آن گزارش نشده است (۲۸). از نظر تنوع در میکروRNAهای منحصربه‌فرد علاوه بر ادرار، مایع برونکیال (BAL) و اشک نیز ضعیف هستند. البته ذکر این نکته لازم است که ممکن است مقدار کم میکروRNAهای گزارش شده به علت نقص و حساسیت پایین روش‌های بررسی و اندازه‌گیری میکروRNAها باشد. با اینکه روش q-

جدول ۱- غلظت RNA تام استخراج شده، مقدار و تنوع میکروRNAها در مایعات مختلف بدن (۲۸، ۳۱)

شماره	منبع نمونه	غلظت RNA تام استخراج شده (µg/L)	مقدار میکروRNAهای گزارش شده	فراوان ترین میکروRNAهای گزارش شده	نمونه هایی از میکروRNAهای اختصاصی گزارش شده
۱	ادرار	۱۰۰	۲۰۰	miR-515-3p/miR-335*/miR-892a	-
۲	مایع مغزی نخاعی	۱۰۰	۲۰۰	/miR-515-3p/miR-335-892a	miR-577
۳	پلاسما (سرم)	۴۰-۲۰۰	۴۰-۲۵۰	miR-335/miR-325/miR-377	miR-224/miR-483-3p/miR-518f/miR-551b/miR-182
۴	مایع پلور (جنب)	۵۰-۲۰۰	۲۰۰	miR-515-3p/miR-892a/miR-223	-
۵	مایع آمنیوتیک	۵۰۰	۴۰-۲۵۰	miR-518e/miR-335	miR-636/miR-92a-1/miR-593*
۶	اشک	۵۰۰	۳۰۰	/miR-137 miR-335	miR-637
۷	اغز	۶۰۰	۴۰۰	miR-509-5p/miR-181d/ miR-335	/miR-10b* miR-18a
۸	مایع صفای (برینوتن)	۸۰۰	۲۰۰	miR-515-3p/ miR-892a/ miR-134	miR-129
۹	مایع حاصل از تستشوی ریه	۱۲۰۰	۲۵۰	/miR-515-3p/ miR-335-509-5p	-
۱۰	بزاق	۲۵۰-۲۰۰۰	۵۰۰	/miR-892a/miR-335-515-3p	/miR-182-622/miR-141/miR-26a
۱۱	مایع منی	۲۰۰۰	۲۵۰	miR-518e/miR-590-3p/miR-588b	miR-508-5p/miR-644
۱۲	شیر	۵۰۰۰	۲۵-۴۰۰	/miR-26a/miR-335-181d	-

\* به ترتیب غلظت RNA تام استخراج شده، میانگین غلظت ها به صورت تقریب شده، مقدار به صورت تقریب شده

سلولی هستند که به صورت سیستمیک و پاراکرین عمل گفتمان سلول ها (Crosstalk) را با تنظیمی دقیق (Fine-Tuning) به عهده دارند (۴۲ و ۴۳). در تایید این فرضیه یافته‌های جدید نشان دادند که میکروRNAها به صورت انتخابی توسط ماشین ترشحی سلول که وابسته به سرامید و اسفنگومیلیناز است، به محیط اطراف ترشح می‌شوند (۴۴). این میکروRNAهای گردشی در وزیکول‌هایی از غشاء دو لایه در اندازه‌های متفاوت به محیط آزاد می‌شوند و می‌توانند شرایط سخت مایعات بدن نظیر سرم را که حاوی مقادیر فراوانی از ریبونوکلائز است را تحمل کرده تا عملکرد فیزیولوژیک خود را انجام دهند (۴۵ و ۴۶).

### بررسی میکروRNAهای گردشی در خون؛ دو راهی سرم و پلاسما

مقدار و تنوع میکروRNAها در نمونه‌های سرمی از پلاسما بیشتر است. دلیل این افزایش آزاد شدن میکروRNAها از داخل سلول‌های خونی مانند گلبول‌های قرمز، لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها در خلال فرآیند انعقاد خون است. فرآیند انعقاد در واقع محیط پر از استرسی (Stressful environment) برای سلول‌های خونی است (۴۷) که طی آن سلول‌ها تحریک به ترشح میکروRNAها به محیط

PCR یکی از اختصاصی‌ترین و حساس‌ترین روش‌ها برای اندازه‌گیری میکروRNA می‌باشد ولی سایر تکنیک‌های مورد استفاده مانند میکروآرای (Microarray) و RNA-Seq همانند روش q-PCR حساس نبوده و نیاز به تایید با روش q-PCR دارند (۳۶ و ۳۷). غلظت و تنوع میکروRNAها در مایعات مختلف بدن در جدول ۱ به نمایش آمده است.

### میکروRNAهای گردشی در سرم (پلاسما)

برخلاف سایر انواع RNA، میکروRNAها مولکول‌های پایدارتری هستند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که حداقل تا ۴۸ ساعت بعد از جداسازی سرم از سلول‌های خونی، میکروRNAها در دمای اتاق پایدار هستند. همچنین انجماد و ذوب نمودن متوالی نمونه، اثر منفی کمی بر روی مقدار میکروRNA می‌گذارد (۳۸ و ۳۹). تغییر پروفایل بیانی میکروRNAهای گردشی سرم در مطالعات متعددی در بدخیمی‌ها گزارش شده است (۴۰ و ۴۱). در این مطالعات نشان داده شد که این تغییر می‌تواند با نوع بدخیمی، محل بافت آسیب‌دیده و مدت زمان ایجاد بدخیمی متناسب باشد. منبع میکروRNAهای گردشی در سرم به خوبی مشخص نیست، برخی پژوهشگران معتقدند که میکروRNAهای گردشی نوعی ارتباط بین

مطرح نموده است (۵۲). در سرطان ریه افزایش سرمی miR-21 در مطالعات متعددی گزارش شده است. همچنین miR-21 به عنوان بیومارکری در تمایز بیماران با سرطان ریه در ابتدای بیماری و افراد سالم غیرسیگاری مطرح می‌باشد. علاوه بر miR-21، میکروRNAهای دیگری نیز در بدخیم‌ها بررسی شده و به عنوان بیومارکرهای بالقوه برای تشخیص سرطان مطرح هستند. به صورت قابل توجهی غلظت سرمی چهار میکروRNA (miR-10b، miR-141، miR-155 و miR-34c) در بین افراد سرطانی افزایش می‌یابد. همچنین در سرطان ریه غلظت سرمی miR-10b با متاستاز به غدد لنفاوی ارتباط دارد (۵۲ و ۵۳).

برای کاهش تعداد موارد بیوپسی در کبد مطالعات متعددی بر روی میکروRNAها انجام گرفته است. در عفونت مزمن هپاتیت C و بیماری کبد چرب غیر الکلی (Non-alcoholic fatty liver disease -NAFLD) مقدار سرمی miR-122 در مقایسه با افراد سالم افزایش می‌یابد. مقدار miR-122 با سطح فیروز و التهاب در سلول‌های کبدی نیز ارتباط مستقیم دارد. در حالی که این ارتباط با تعداد ذره ویروس (Viral Load) در فرد آلوده مشاهده نشده است (۵۴ و ۵۵). در کارسینومای سلول‌های کبدی (HCC) مقدار miR-21 گردش در مقایسه با درگیری‌های مزمن کبدی و یا افراد سالم افزایش دارد. به طور قابل توجهی بیان miR-21 در این افراد پس از عمل جراحی نسبت به قبل از عمل کاهش پیدا می‌کند که نشان‌دهنده پتانسیل بالای میکروRNAها علاوه بر زمینه تشخیصی در ارزیابی موفقیت و پیشرفت درمان بیماران است (۵۶).

با اینکه در زمینه سرطان بیشترین مطالعات در زمینه میکروRNA به چاپ رسیده است با این حال تعداد پژوهش‌ها درباره ارتباط میکروRNAها و خودایمنی و بیماری‌ها مرتبط با آن، به سرعت در حال افزایش است (۵۷). همان‌طور که گفته شد تغییرات بیانی ژن‌ها در سلول‌های ایمنی نسبت به سایر سلول‌ها بیشتر وابسته به تنظیم شبکه میکروRNAها است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که بقاء، تکثیر، تکامل، تمایز، تولید

می‌شوند. همچنین با توجه به تعداد زیاد گلبول‌های قرمز و محتوای میکروRNA آن‌ها، می‌توان گلبول‌های قرمز را منبع بالقوه‌ای برای آلودگی میکروRNAهای سرمی در نظر داشت. پلاکت‌ها فاقد هسته هستند باین حال برخلاف اندازه کوچکشان غنی از مولکول‌های RNA و میکروRNA می‌باشند. تاکنون بیش از ۵۰۰ میکروRNA مختلف در پلاکت‌ها یافت شده است (۴۸). با توجه به مطالب گفته شده به نظر می‌رسد فرآیند جداسازی

سلول‌ها بدون آغاز فرآیند انعقادی استرس کمتری به سلول‌ها وارد می‌کند و پلاسما نمونه مناسب‌تر و خالص‌تری برای بررسی‌های میکروRNAها می‌باشد.

### مطالعه میکروRNAهای گردشگر در بدخیمی‌ها، بیماری‌های خود ایمن و عفونت‌ها

در نخستین مطالعات، پروفایل بیانی میکروRNAها در بافت‌ها و مقاطع بافتی (بیوپسی) بررسی شدند (۴۹). به‌طور قابل توجهی میکروRNAها در مقاطع بافتی پارافینه فیکس شده در فرمالین (FFPE) مقاوم هستند (۵۰). در زمان کوتاهی تعداد مطالعات برای بررسی میکروRNAها به عنوان بیومارکر بدخیمی‌ها در نمونه‌های بافتی افزایش چشمگیری داشت. miR-21 از معروف‌ترین و برجسته‌ترین میکروRNAهایی است که در پیشرفت و پیدایش سرطان‌ها اهمیت دارد. جلوگیری از بیان این میکروRNA سبب فعال شدن آنزیم کاسپاز و سایر پروتئین‌های آپوپتوزی شده و مرگ در سلول‌های توموری را تسریع می‌کند (۵۱). در بدخیمی‌هایی نظیر گلیوبلاستوما، سرطان پستان، کارسینومای سلول‌های کبدی (Hepatocellular Carcinoma - HCC) و سرطان معده، افزایش miR-21 در بافت‌های بدخیم گزارش شده است. در همین راستا افزایش سرمی miR-21 در بسیاری از بدخیمی‌ها نظیر سرطان تخمدان، سرطان ریه، کارسینومای سلول‌های کبدی، سرطان حنجره و لنفوما گزارش شده و این میکروRNA را به عنوان یک بیومارکر عمومی، برای بسیاری از بدخیمی‌ها

در نمونه‌های مختلف از جمله سرم بررسی شده است. در سال ۲۰۱۳ تاناگا و همکاران، نشان دادند که مقدار miR-30b علاوه در بافت در گیر پوست در سطح سرمی نیز کاهش می‌یابد. این میکروRNA به صورت مستقیم از بیان پذیرنده PDGF جلوگیری می‌کند. این پذیرنده نقش مهمی در پیشرفت فیبروز دارد. همچنین نشان داده شد که مقدار این کاهش با شدت فیبروز ارتباط دارد. بدین ترتیب علاوه بر نقش تشخیصی میکروRNAها می‌توان از آنها نیز به عنوان مارک‌هایی بالقوه در بررسی پیشرفت بیماری استفاده نمود (۶۳). در سال ۲۰۱۴ اولین مطالعه بر روی سرم افراد مبتلا به بیماری‌های خود ایمن تیروئیدی (Autoimmune thyroid disease - AITD) منتشر شد که با استفاده از تکنیک میکروآرای ۱۷۰۰ میکروRNA در سرم افراد بیمار با افراد سالم مقایسه شد. در این مطالعه افزایش معنی دار سطح سرمی miR-16، miR-22، miR-375 و miR-451 گزارش شد. همچنین نشان داده شد که افزایش میکروRNAهای ذکر شده با پاتوژن بیماری گریوز (Graves' disease - GD) و هاشیموتو مرتبط است (۶۴). علاوه بر بدخیمی‌ها و بیماری‌های خود ایمن در چند سال اخیر، مطالعات فراوانی در ارتباط با معرفی میکروRNAهای سرمی به عنوان بیومارکر تشخیصی در بیماری‌های عفونی انجام گرفته است. از جمله این مطالعات می‌توان به بررسی میکروRNAهای سرمی در بیماری سل، سل نهفته، سیاه سرفه، هپاتیت B و C، بیماری‌های ویروسی نظیر آنفلونزا و HIV اشاره نمود (۶۵). پیشرفت‌هایی که در این زمینه به دست آمده سبب شده مطالعات متعددی بر روی میکروRNAهای گردشی در حیوانات و بیماری‌های عفونی مرتبط با آنها انجام گردد (۶۶). در جدول ۲، به نتایج برخی مطالعات انجام شده در بیماری‌های مختلف برای معرفی میکروRNAهای گردشی کاندید برای تشخیص بیماری اشاره شده است.

### میکروRNAها در بزاق

بزاق محلول هیپوتونیک است که ۹۹٪ آن را آب

سایتوکاین‌ها و آنتی‌بادی‌ها وابسته به عملکرد شبکه میکروRNA سلولی است (۵۸)، به طوری که نقص در آنزیم‌های دخیل در بیوژنز میکروRNAها در لنفوسیت‌های B و T سبب حذف سریع این سلول‌ها از خون محیطی می‌شود. بدین ترتیب شواهد فزاینده‌ای بر نقش برجسته میکروRNAها به صورت مستقیم و غیرمستقیم در بروز بیماری‌های خود ایمن تاکید می‌کنند (۵۹). با اینکه اکثر میکروRNAهای بررسی شده در بیماری‌های خود ایمن، داخل سلول بوده اند ولی میکروRNAهای دیگری در مایعات خارج سلولی به ویژه سرم (پلاسما) نیز بررسی و اندازه‌گیری شده اند. با توجه به اثرات التهابی این میکروRNAها این فرضیه قوت می‌گیرد که ساز و کار التهاب سیستمیک در بیماری‌های خود ایمن ممکن است وابسته به تغییرات میکروRNAها در مایعات بدن به ویژه در سطح سرم باشد (۵۲). در بین میکروRNAهای بررسی شده در فرآیند خودایمنی، miR-155 نقش موثری و برجسته تری دارد. علاوه بر سلول‌های B و T افزایش بیان این میکروRNA در سطح سرمی نیز گزارش شده است. کاهش miR-155 سرمی، اثرات پاتولوژیک سلول‌های B خود فعال (Autoreactive) تولید کننده اتوآنتی‌بادی و همچنین تمایز لنفوسیت‌های T به فنوتیپ‌های التهابی را کاهش می‌دهد (۶۰). افزایش سرمی miR-155 در بیماری لوپوس اریتماتوز سیستمیک (Systemic Lupus Erythematosus - SLE) و آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis - RA) در مطالعات متعددی گزارش شده است. علاوه بر miR-155 میکروRNAهای دیگری نیز کاندید بیومارکر برای بیماری‌های خود ایمن هستند؛ برای مثال کاهش سرمی miR-146a نیز در لوپوس، آرتریت روماتوئید و شوگرن گزارش شده است (۶۱). این میکروRNA، به طور مستقیم از فعال شدن مسیر پایین دست سیگنال دهی برای تولید اینترفرون I جلوگیری می‌کند و افزایش بیان این میکروRNA با کاهش سیستمیک تولید اینترفرون I و کنترل التهاب ارتباط دارد (۶۲). در اسکلرودرمی (Scleroderma - SSC) نیز بیان میکروRNAها

جدول ۲- برخی مطالعات انجام شده در بیماری های مختلف برای معرفی میکروRNAهای سرمی کاندید به عنوان بیومارکر تشخیصی

میکروRNA (کاهش)	میکروRNA (افزایش)	بیماری	
-	miR-16, miR-92a/b, miR-103	سرطان پروستات	بدخیمی ها و بیماری های
miR-155, miR-127	miR-200a/b/c, miR-21, miR-141	سرطان تخمدان	نئوپلاستیک
miR-486, miR-146b	miR-21, miR-30	سرطان ریه	
-	miR-21, miR-122, miR-34	کارسینومای سلول های کبدی	
miR-375	miR-21	سرطان مری	
miR-146, miR-200a/b/c	miR-155	لوپوس اریتماتوز سیستمیک	بیماری های خودایمنی
miR-146, miR-132	miR-24	آرتریت روماتوئید	
miR-15, miR-223	miR-125a, miR-614	مالتیپل اسکلروزیس	
miR-19, miR-29	miR-128, miR-1266	سوریاژیس	
-	miR-127	بیماری التهابی روده	
miR-30b	miR-92a, miR-142a	اسکلرودرمی	
miR-155	miR-93, miR-29a	مایکوباکتریوم توبرکلوزیس	بیماری های عفونی
miR-497, miR-486	miR-122, miR-16, miR-20a, miR-92a	هیپاتیت B	
miR-494, miR-483	miR-122, miR-34a, miR-16	هیپاتیت C	
-	miR-202, miR-342	سیاه سرفه	
miR-26a	miR-150, miR-1260	انفلوانزا (H1N1)	

دهان و دندان و چه در بیماری های سیستمیک مطرح است (۳۰). بررسی مولکول های نظیر DNA، RNA و پروتئین به دلایل زیادی در بزاق نسبت به سرم و ادرار ترجیح داده می شود (۶۸). جمع آوری بزاق راحت و امکان انتشار عوامل عفونی به ویژه ویروس ها را کاهش می دهد. تراکم مولکول ها و مواد مداخله کننده در روش های اندازه گیری در بزاق نسبت به سرم و به ویژه ادرار کمتر است؛ همچنین بسیاری از بیومارکرهای قابل اندازه گیری در سرم در بزاق نیز یافت می شود (۷۰). با توجه به دلایل ذکر شده بزاق جایگاه جدیدی در مبحث مطالعات شناسایی بیومارکرها پیدا کرده است. مطالعات ترانسکریپتومیکس نشان داده اند که بیش از ۳۰۰۰ نوع مختلف RNA از جمله تعداد زیادی میکروRNA ها در بزاق وجود دارد. میکروRNAها در بزاق برعکس بسیاری دیگر از توالی ها نوکلئوتیدی و mRNA ها، پایدار هستند (۶۹).

**بررسی میکروRNAها در بزاق و بیماری های مرتبط با دهان و دندان**  
میکروRNAها به عنوان یکی از اولین نشانه های تغییرات در سلول های سرطانی و شروع تومورزایی

تشکیل می دهد و یک درصد باقی مانده شامل مولکول ها و آنزیم های بسیار حیاتی است که برای حفظ و هوموستاز ایمنی و همچنین تعادل میکروبیوتا درون دهان بسیار مهم است. آمیلاز بزاقی (پتیالین)، لیزوزیم، یون های تیوسیانات، دفنسین ها از ماکرومولکول های مهم برای فعالیت بزاق هستند (۶۸). بزاق در شرایط سالم، بی رنگ و بی بو با pH در حدود ۶/۵ تا ۷/۲ می باشد. یک فرد سالم می تواند تا ۶۰۰ میلی لیتر در روز بزاق تولید کند ولی این مقدار به عوامل گوناگونی مانند ژنتیک فرد، رژیم غذایی و عوامل دیگر مرتبط است. به طور عمده ۹۰ درصد بزاق توسط غدد بزاقی ترشح می شود. غدد بزاقی با نفوذپذیری بالا توسط تعداد زیادی از مویرگ ها احاطه شده اند که سبب انتقال مواد سرمی به درون کانال های بزاقی می شود (اگزودا). در نتیجه ترکیب مولکولی بزاق از جهاتی بسیاری شبیه سرم است و بیومارکرهای بسیاری که در سرم وجود دارند نیز قابل اندازه گیری در بزاق می باشند (۶۸ و ۶۹). در ابتدا مطالعات شناسایی بیومارکر بر روی نمونه های سرم و ادرار متمرکز بود. ولی در حال حاضر بزاق نیز به عنوان یکی از مایعات باارزش برای یافتن بیومارکرهای بیولوژیک چه در بیماری های مختص

جدول ۳- بررسی میکروRNAهای ادراری در بدخیمی های مرتبط با بیماری های کلیه و مجاری ادراری (۹۳، ۹۶، ۹۹)

بیماری	نمونه	میکروRNA (افزایش)	میکروRNA (کاهش)
آدنوما کارسینومای پانکراس	ادرار کامل	miR-143, miR-223 miR-30e	-
سرطان اوروتلیال	ادرار کامل	miR-126b	miR-125b
سرطان پروستات	ادرار کامل	miR-21	miR-19a, miR-19b
آسیب سلول های اپیتلیال توبولار کلیه	ادرار کامل	miR-320	let-7d, miR-203
سرطان مثانه	ادرار کامل	miR-126, miR-152, miR-618	-
	رسوب ادرار	miR-155	miR-200a
کارسینومای سلول های ترانزیشنال	مایع رویی ادرار پس از سانتریفیوژ	miR-145	-
کارسینومای سلول های یوروتلیال	ادرار کامل	miR-187, miR-140-5p	-

در بافتها مطرح هستند. ترشح میکروRNAها در مایعات پیرامون خود به عنوان اولین یافته اختصاصی در تشخیص زودهنگام، قبل از مشاهده ماکروسکوپیکی تومور، همچنین پیگیری روند درمان و عود مجدد پس از جراحی به خصوص در موضع محدود دهان و لثه مورد توجه می باشند (۷۱ و ۷۲). پارکو و همکارانش نشان دادند؛ علاوه بر تغییرات بیانی میکروRNAها در بافت های سرطانی دهان، بیان miR-125 و miR-200a به طور قابل توجهی در بزاق بیماران مبتلا به کارسینوم سلول های اسکواموس دهانی ( Oral -OSCC squamous cell carcinoma) کاهش می یابد (۷۳). در مطالعه دیگری توسط مومن نشان داده شد که miR-27b در بزاق این بیماران نیز افزایش می یابد (۷۴ و ۷۵). همچنین در سرطان سلول های اسکواموس سر و گردن بیان افزایش یافته miR-9 در بزاق بیماران گزارش شد (۷۶). برای تشخیص زودهنگام عفونت های لثه (پریودنتیت) و دندان به ویژه پوسیدگی دندان مطالعات بسیاری انجام گرفته و تغییرات میکروRNAهای متعددی در بزاق گزارش شده است (۷۷ و ۷۸).

بیماری های سیستمیک نیز انجام شده است و نتایج امیدوارکننده ای گزارش شده است (۷۹ و ۸۰). سرطان پانکراس از بدخیمی های نادر ولی بسیار کشنده است. لزوم تشخیص به موقع و یافتن بیومارکرهایی حساس و اختصاصی برای تشخیص زودهنگام بیماری از اهمیت بسزایی برخوردار است. به ویژه اگر بتوان با استفاده از نمونه بزاق به صورت منظم و دوره ای بیماران و یا نزدیکان مبتلایان را پایش نمود. در مطالعه هومیو و همکارانشان در سال ۲۰۱۵، مقدار افزایش یافته miR-21، miR-23a، miR-23b و miR-29 در بزاق افراد مبتلا به سرطان پانکراس گزارش شد. این در حالی است که در خود ضایعات نیز افزایش بیان miR-23a و miR-23b نیز گزارش شده بود. همچنین این گروه نشان دادند که افزایش miR-210 و let-7c در بزاق افراد مبتلا به التهاب حاد پانکراس نیز وجود دارد (۸۱). پیشتر ذکر شد که miR-21 و miR-141 در مراحل اولیه و پیشرفته سرطان پروستات در سرم افزایش می یابند. در حال حاضر افزایش این دو میکروRNA در بزاق نیز گزارش شده است (۸۲). در مطالعه ای که به تازگی به چاپ رسیده است با استفاده از نانوگرافن ها (نانوتکنولوژی) و تغییرات میکروRNAهای نامبرده در بزاق، کیت های تشخیصی برای ارزیابی بیماری های سیستمیک طراحی شده است (۸۲). علاوه بر بدخیمی ها در بیماری های خود ایمن نیز تغییرات بیان میکروRNA های گردشی در بزاق بررسی شده است. شوگرن بیماری خود ایمن سیستمیک است که التهاب و عملکرد نامطلوب در ارگان های برون-ریز (اگزوکراین) به ویژه غده بزاقی و لاکریمال دیده

در بافتها مطرح هستند. ترشح میکروRNAها در مایعات پیرامون خود به عنوان اولین یافته اختصاصی در تشخیص زودهنگام، قبل از مشاهده ماکروسکوپیکی تومور، همچنین پیگیری روند درمان و عود مجدد پس از جراحی به خصوص در موضع محدود دهان و لثه مورد توجه می باشند (۷۱ و ۷۲). پارکو و همکارانش نشان دادند؛ علاوه بر تغییرات بیانی میکروRNAها در بافت های سرطانی دهان، بیان miR-125 و miR-200a به طور قابل توجهی در بزاق بیماران مبتلا به کارسینوم سلول های اسکواموس دهانی ( Oral -OSCC squamous cell carcinoma) کاهش می یابد (۷۳). در مطالعه دیگری توسط مومن نشان داده شد که miR-27b در بزاق این بیماران نیز افزایش می یابد (۷۴ و ۷۵). همچنین در سرطان سلول های اسکواموس سر و گردن بیان افزایش یافته miR-9 در بزاق بیماران گزارش شد (۷۶). برای تشخیص زودهنگام عفونت های لثه (پریودنتیت) و دندان به ویژه پوسیدگی دندان مطالعات بسیاری انجام گرفته و تغییرات میکروRNAهای متعددی در بزاق گزارش شده است (۷۷ و ۷۸).

### بررسی میکروRNAها در بزاق و ارتباط آن بیماری های سیستمیک

از آنجایی که بسیاری از مولکول های سرم در بزاق نیز ترشح می شوند بزاق می تواند به خوبی منعکس کننده تغییرات سرمی نیز باشد. در همین راستا بررسی میکروRNAها در نمونه های بزاق علاوه بر بیماری های موضعی دهان و دندان برای



پایین تر است (۹۰ و ۹۱).

### بررسی میکروRNAهای ادراری و بیماری‌های مرتبط با کلیه و مجاری ادراری

سرطان‌های اورولوژیک بیش از یک چهارم بدخیمی‌های انسان، شامل سرطان پروستات (Prostate carcinoma -Pca)، کارسینومای سلول‌های کلیه (Renal cell carcinoma-RCC) و سرطان مثانه (Bladder carcinoma -BCa) را تشکیل می‌دهد (۸۶). تاکنون در پژوهش‌های مختلف بیش از ۵۰ میکروRNA در بدخیمی‌های اورولوژیک به عنوان بیومارکر گزارش شده است (۹۲). یکی از بهترین شاخص‌های بررسی سرطان پروستات اندازه‌گیری آنتی ژن اختصاصی پروستات (Prostate-specific antigen-PSA) در سرم است (۹۳). در مطالعه‌ای که توسط استوپلیت در سال ۲۰۱۶ بر روی نمونه‌های ادراری بیماران مبتلاء به سرطان پروستات انجام گرفت نشان داده شد که بیان miR-21 در نمونه ادرار بیماران مبتلاء به سرطان پروستات به صورت قابل تمایزی نسبت به افراد گروه کنترل افزایش نشان می‌دهد. چنانکه تغییرات miR-21 برای پیشگویی و تشخیص موارد عود بیماری (Disease Relapse) حساسیت بالاتری نسبت به آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) دارد. همچنین استفاده همزمان از پانل miR-21, miR19a, miR-19b و miR-19b علاوه بر حساسیت، افزایش اختصاصیت ( $AUC_{miR} = 0.738$  در مقابل  $AUC_{PSA} = 0.514$ ) را نسب به آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) برای تشخیص بیماری سرطان پروستات به همراه دارد (۹۴). همانند بسیاری از مایعات بدن می‌توان نمونه ادراری را توسط سانتریفوژ به دو قسمت رسوب سلولی (Cellular sediment) و مایع رویی تفکیک نمود. پژوهش‌های متعدد نشان دادند که می‌توان از هر دو فاز برای بررسی ژنتیکی و بررسی بیومارکر استفاده نمود (۹۵). در سرطان مثانه نیز نمونه ادرار به عنوان یکی از خطوط اول بررسی میکروRNAها مطرح می‌باشد. بدین ترتیب در مطالعات مختلف پروفایل بیانی میکروRNAها در دو فاز ادرار کامل و رسوب آن در بیماران مبتلاء به

می‌شود. مطالعات مختلف حاکی از تغییر پروفایل بیانی در بافت غدد بزاقی است که نتیجه آن نیز کاهش و افزایش برخی میکروRNAها در بزاق است (۸۳ و ۸۴).

### بررسی میکروRNAها در ادرار و بیماری‌های مرتبط با کلیه و مجاری ادراری

در طیف وسیعی از بیماری‌ها و بدخیمی‌ها تعداد مطالعات مرتبط با معرفی میکروRNAها به عنوان بیومارکر ادراری در حال افزایش است (۸۵ و ۸۶). ادرار یکی از نمونه‌های غیرتهاجمی است که جمع آوری راحتی دارد، در حالی که نمونه‌ای اختصاصی برای بیماری‌های مرتبط با کلیه و مجاری انتقال ادرار نیز محسوب می‌شود. در مورد منبع میکروRNAها در ادرار فرضیات مختلف و اثبات نشده‌ای وجود دارد. ولی به طور کلی علاوه بر فیلتراسیون از گردش خون، میکروRNAها از هر مکانی که در تولید و انتقال ادرار مشارکت دارد، از سلول‌های پودوسیت کلیه تا سلول‌های ترانزیشنال مثانه می‌توانند به صورت فعال و یا غیرفعال وارد ادرار شوند (۸۷). همان‌طور که پیشتر ذکر شد یکی از ویژگی‌های مهم میکروRNAها پایداری و تحمل شرایط دشوار محیط مانند: pH اسیدی و بازی، فعالیت بالای آنزیم RNase، نگهداری طولانی در دمای اتاق و چرخه‌های مکرر ذوب-انجماد است (۸۸ و ۸۹). میکروRNAها در محیط نامناسب ادرار نیز نسبتاً مقاوم هستند. در مطالعه متعددی نشان داده شد که میکروRNAها در نمونه ادراری برای حداقل ۵ روز در دماهای مختلف پایدار بوده و همچنین ۱۰ بار ذوب و انجماد متوالی، سبب تخریب متوسطی در محتوای میکروRNA نمونه ادراری می‌شود، به طوری که هنوز می‌توان میکروRNAها را در ادرار به صورت کمی اندازه‌گیری نمود. با این حال ادرار حاوی مقدار کمی ماده ژنتیکی و میکروRNA است همچنین به دلیل مقدار بالای آنزیم‌های نوکلئاز قطعات خورد شده زیر ۱۰۰۰ نوکلئوتید در آن بسیار وجود دارد. در نتیجه کارایی استخراج و جداسازی میکروRNA به نسبت سایر مایعات بدن در ادرار

تشخیص مرحله-۱ (Stage-I) بیماری نسبت به سایر مراحل بیماری (Stage-II-IV) حساسیت و اختصاصیت بالاتری برای گروه بندی بیماران نشان داد (۱۰۴).

اهمیت میکروRNAها در پاتوژنز و سیر بیماری‌های خود ایمن نیز مورد توجه قرار گرفته است. در این زمینه کوشش‌های بسیاری برای یافتن بیومارکرهایی برای تشخیص زودهنگام التهاب در کلیه و نفرون‌ها قبل از بروز آسیب جدی انجام گردید. بیماری‌هایی نظیر لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) و اسکلرودرمی (SSc) به صورت مستقیم می‌توانند با سیری مزمن و یا حاد سبب آسیب غیرقابل برگشت کلیه‌ها شوند. یافتن بیومارکری که بتواند قبل از شروع آسیب به گلوبومرول‌ها و پروتئینوری سیر بیماری را پیش‌بینی کند از اهداف کاربردی برای تنظیم سطح درمان در بیماران خود ایمن است (۱۰۵) و (۱۰۶). در این زمینه میکروRNAهای ادراری پتانسیل بالایی برای تعیین این نقش را دارند (۱۰۷). تعداد تحقیقات در نمونه‌های ادراری بیماران خود ایمن به ویژه بیماری نفریت لوپوسی (Lupus Nephritis-LN) به سرعت در حال افزایش است. در مطالعه‌ای در بیماران مبتلا به نفریت لوپوسی، آقای وانگ و همکاران شان (۶۱) نشان دادند که در هر دو فراکشن سرمی و ادراری بیانی میکروRNAها در ابعاد گسترده‌ای وجود دارد. به طور مثال در بیماران مبتلا به نفریت لوپوسی خانواده miR-200 شامل (miR-200a,b,c) در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در افراد با لوپوس بدون درگیری کلیه افزایش معنی داری وجود دارد. در این مطالعه پایلوت بین مقدار بیان خانواده miR-200 و شدت بیماری، پروتئینوری و مقدار فیلتراسیون گلوبومرولی (Glomerular filtration rate- GFR) همراهی (همبستگی) مثبت گزارش شد (۶۱).

#### نتیجه گیری:

نتایج حاصل از مطالعات به دست آمده نشان می‌دهند که الگوی ثابتی در فراوانی و تنوع بیان، چند صد میکروRNA گردشی حاضر در مایعات بدن وجود دارد و تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک

سرطان مثانه بررسی گردید (۹۶). در دو مطالعه‌ای که بر روی نمونه ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه (BCa) به صورت مجزا در آلمان انجام گردید چهار میکروRNA؛ miR-126، miR-152، miR-618 و miR-1255 به عنوان بیومارکر تشخیصی معرفی شدند (۹۷ و ۹۸). این در حالی است که آقای وانگ از رسوب ادرار برای بررسی میکروRNAها در مطالعه خود بر روی بیماران سرطان مثانه (BCa) استفاده نمود و miR-200a را به عنوان بیومارکر گزارش نمود (۹۹). در جدول ۳، برخی از پژوهش‌های انجام شده برای بررسی بیومارکر در نمونه‌های ادراری انجام به نمایش درآمده است.

#### بررسی میکروRNAها در ادرار و بیماری‌های سیستمیک

علاوه بر بیماری‌هایی که به صورت مستقیم در تولید و انتقال ادرار نقش دارند، میکروRNAهای ادراری برای تشخیص بیماری‌های سیستمیک نیز مورد مطالعه قرار گرفته و میکروRNAهای متعددی در ادرار به عنوان بیومارکر پیشنهاد شده اند (۱۰۰). سرطان پستان یکی از بدخیمی‌های شایع در زنان در سرتاسر جهان می‌باشد. زمان تشخیص و شروع سریع درمان یکی از مهم ترین عوامل بقاء بیماران است. مطالعات متعددی بر روی بافت درگیر و نمونه‌های سرمی مبتلایان به سرطان پستان انجام شده است (۱۰۱ و ۱۰۲). همچنین مطالعاتی نیز بر روی

نمونه‌های ادراری بیماران، به صورت مطالعات ابتدایی (Pilot study) انجام و میکروRNAهایی به عنوان کاندید در تشخیص بیماری گزارش شدند. در یکی از اولین مطالعات در سال ۲۰۱۵ در نمونه‌های ادراری بیماران مبتلا به سرطان پستان افزایش بیان miR-155 و کاهش miR-21 و miR-125b در نمونه ادراری گزارش شد (۱۰۳). علاوه بر سرطان پستان در آدنوکارسینومای پانکراس که یکی از سرطان‌های بدخیم با سیری پیشرونده است، تغییرات بیانی میکروRNAهای ادراری مورد بررسی قرار گرفته است. در این پژوهش مقادیر افزایش یافته miR-143، miR-223 و miR-30e در ادرار بیماران گزارش شد. به ویژه miR-143 در

- 32.
10. Schickel R, Boyerinas B, Park S, Peter M. MicroRNAs: key players in the immune system, differentiation, tumorigenesis and cell death. *Oncogene* 2008;27:5959-74.
  11. Seif F, Khoshmirasafa M, Aazami H, Mohsenzadegan M, Sedighi G, Bahar M. The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells. *Cell Commun Signal* 2017;15:23.
  12. Sonkoly E, Stähle M, Pivarcsi A. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. *Semin Cancer Biol*. 2008;131-40.
  13. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx*. 2004; 1:182-8.
  14. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers?. *NeuroRx*. 2010; 5:463.
  15. George S, Chaudhery V, Lu M, Takagi M, Amro N, Pokhriyal A, et al. Sensitive detection of protein and miRNA cancer biomarkers using silicon-based photonic crystals and a resonance coupling laser scanning platform. *Lab Chip*. 2013;13: 4053-64.
  16. Nabavi M, Rekabi M, Arshi S, Fallahpour M, Molatefi R, Rajabi A, et al. Evaluation of total and specific IgE in serum of wheat allergy patients before and after of desensitization. *rjms*. 2016; 23: 100-08.
  17. Etheridge A, Lee I, Hood L, Galas D, Wang K. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat Res*. 2011;717:85-90.
  18. Pal MK, Jaiswar SP, Dwivedi VN, Tripathi AK, Dwivedi A, Sankhwar P. MicroRNA: a new and promising potential biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian cancer. *Cancer Biol Med*. 2015;12:328.
  19. Brown JN, Brewer HM, Nicora CD, Weitz CD, Morris MJ, Skabelund AJ, et al. Protein and microRNA biomarkers from lavage, urine, and serum in military personnel evaluated for dyspnea. 2014; :58..
  20. Turchinovich A, Cho W. The origin, function and diagnostic potential of extracellular microRNA in human body fluids: *Frontiers E-books*, 2014.
  21. Zhang J, Li S, Li L, Li M, Guo C, Yao J, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *journal abbreviation??* 2015;13:17-24.
  22. Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, Lopez-Berestein G, Sood AK, Calin GA. MicroRNAs in body fluids—the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;8:467-477.
  23. Ludwig N, Leidinger P, Becker K, Backes C, Fehlmann T, Pallasch C, et al. Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic Acids Res*. 2016;44: 3865-77
  24. O'connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA,

می‌توانند به‌طور منحصر به فردی این الگو را تغییر دهند. با این حال مطالعات تکمیلی بیشتری نیاز است تا به‌طور کامل میکروRNAهای افزایش و یا کاهش یافته در هر بیماری مشخص و مورد تایید قرار گیرد. از آنجایی که میکروRNAها مولکول‌های پایداری در مایعات بیولوژیک بدن هستند و بسیاری از این مایعات همانند بزاق، ادرار و سرم به راحتی و کمترین خطر در دسترس می‌باشند، پتانسیل فراوانی برای بررسی میکروRNAها به عنوان بیومارکرهای غیر تهاجمی حساس، در بسیاری از بیماری‌ها وجود دارد. امید است با توسعه تکنولوژی و معرفی روش‌های سریع در بررسی میکروRNAها، به زودی شاهد پیدایش روش‌های غربالگری سریع در بررسی میکروRNAها به عنوان بیومارکرهای تشخیصی و درمانی در بدخیمی‌های و بیماری‌های متفاوت باشیم.

#### منابع

1. Friedländer MR, Lizano E, Houben AJ, Bezdán D, Bález-Coronel M, Kudla G, et al. Evidence for the biogenesis of more than 1,000 novel human microRNAs. *Genome Biol* 2014;15:R57.
2. Chuang JC, Jones PA. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007;61:24R-29R.
3. Faam B. A review on the DNA methylation and its role in thyroid tumor genesis. *RJMS* 2016;22:100-08.
4. Cannell IG, Kong YW, Bushell M. How do microRNAs regulate gene expression?," ed: Portland Press Limited, 2008.
5. Marcinkowska M, Szymanski M, Krzyzosiak WJ, Kozłowski P. Copy number variation of microRNA genes in the human genome. *BMC Genomics* 2011; 12:183.
6. Londin E, Loher P, Telonis AG, Quann K, Clark P, Jing Y, et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci* 2015; 112:E1106-E1115.
7. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight?. *Nat Rev Genet* 2008;9:102-14.
8. Ambros V. microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell* 2001;107:823--6.
9. Bracken CP, Scott HS, Goodall GJ. A network-biology perspective of microRNA function and dysfunction in cancer. *Nat Rev Genet*. 2016;17:719-

39. Köberle V, Pleli T, Schmithals C, Alonso EA, Hauptenthal J, Bönig H, et al. Differential stability of cell-free circulating microRNAs: implications for their utilization as biomarkers. *PloS one* 2013;8:e75184.
40. Qi J, Wang J, Katayama H, Sen S, Liu SM. Circulating microRNAs (cmRNAs) as novel potential biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Neoplasma* 2013;60:135.
41. Hagrass HA, Sharaf S, Pasha HF, Tantawy EA, Mohamed RH, Kassem R. Circulating microRNAs-a new horizon in molecular diagnosis of breast cancer. *Genes Cancer*. 2015;6:281.
42. Yuan Y, Kang R, Yu Y, Liu J, Zhang Y, Shen C, et al. Crosstalk between miRNAs and their regulated genes network in stroke. *Sci Rep*. 2016;6.
43. Knip M, Constantin ME, Thordal-Christensen H. Trans-kingdom cross-talk: small RNAs on the move. *PLoS Genet* 2014;10:e1004602.
44. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem*. 2010;285:17442-52.
45. Rayner KJ, Hennessy EJ. Extracellular communication via microRNA: lipid particles have a new message. *J Lipid Res*. 2013;54:1174-81.
46. Guduric-Fuchs J, O'Connor A, Camp, O'Neill CL, Medina RJ, Simpson DA. Selective extracellular vesicle-mediated export of an overlapping set of microRNAs from multiple cell types. *BMC Genomics*. 2012;13:357.
47. Wang K, Yuan Y, Cho JH, McClarty S, Baxter D, Galas DJ. Comparing the MicroRNA spectrum between serum and plasma. *PLoS One*. 2012;7: e41561.
48. Pontes TB, Moreira-Nunes C, da Silva Maués JH, Lamarão LM, de Lemos JAR, Montenegro RC, et al. The miRNA profile of platelets stored in a blood bank and its relation to cellular damage from storage. *PloS one* 2015;10:e0129399.
49. Setoyama T, Ling H, Natsugoe S, Calin GA. Non-coding RNAs for medical practice in oncology. 2011;60:106-13.
50. Li J, Smyth P, Flavin R, Cahill S, Denning K, Aherne S, et al. Comparison of miRNA expression patterns using total RNA extracted from matched samples of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cells and snap frozen cells. *BMC Biotechnol*. 2007;7:36.
51. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res*. 2005;65:6029-.
52. Allegra A, Alonci A, Campo S, Penna G, Petrunaro A, Gerace D, et al. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review). *Int J Oncol*. 2012;41:1897-912
53. Zheng D, Haddadin S, Wang Y, Gu LQ, Perry MC, Freter CE, et al. Plasma microRNAs as novel Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:111-22.
25. MacLellan SA, MacAulay C, Lam S, Garnis C. Pre-profiling factors influencing serum microRNA levels. *BMC Clin Pathol*. 2014;14:27.
26. Macha MA, Seshacharyulu P, Ram Krishn S, Pai P, Rachagani S, Jain M, et al. MicroRNAs (miRNAs) as biomarker (s) for prognosis and diagnosis of gastrointestinal (GI) cancers. *Curr Pharm Des*. 2014;20:5287-97.
27. Marabita F, de Candia P, Torri A, Tegnér J, Abrignani S, Rossi RL. Normalization of circulating microRNA expression data obtained by quantitative real-time RT-PCR. *Brief Bioinform*. 2016;17:204-12.
28. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*. 2010;56:1733-41.
29. Plieskatt JL, Feng Y, Rinaldi G, Mulvenna JP, Bethony JM, Brindley PJ. Circumventing qPCR inhibition to amplify miRNAs in plasma. *Biomark Res*. 2014;2:13.
30. Lin X, Lo HC, Wong DT, Xiao X. Noncoding RNAs in human saliva as potential disease biomarkers. *Front Genet*. 2015;6:175.
31. Khan N. Analysis of MicroRNAs in Biological Samples," Université d'Ottawa/University of Ottawa, 2015.
32. Shah R, Tanriverdi K, Levy D, Larson M, Gerstein M, Mick E, et al. Discordant expression of circulating microRNA from cellular and extracellular sources. *PloS one* 2016; 11:e0153691.
33. Freedman JE, Gerstein M, Mick E, Rozowsky J, Levy D, Kitchen R, et al. Diverse human extracellular RNAs are widely detected in human plasma. *Nat Commun*. 2016;7.
34. Blondal T, Nielsen SJ, Baker A, Andreasen D, Mouritzen P, Teilum MW, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods* 2013;59:S1-S6.
35. Shah JS, Soon PS, Marsh DJ. Comparison of methodologies to detect low levels of hemolysis in serum for accurate assessment of serum microRNAs. *PloS one* 2016; 11:e0153200.
36. Lauss M, Vierlinger K, Weinhaeusel A, Szameit S, Kaserer K, Noehammer C. Comparison of RNA amplification techniques meeting the demands for the expression profiling of clinical cancer samples. *Virchows Arch*. 2007;451:1019-29.
37. Lang JE, Magbanua MJM, Scott JH, Makrigiorgos GM, Wang G, Federman S, et al. A comparison of RNA amplification techniques at sub-nanogram input concentration. *BMC Genomics*. 2009;10:326.
38. Çalıkan M, Pritchard JK, Ober C, Gilad Y. The effect of freeze-thaw cycles on gene expression levels in lymphoblastoid cell lines. *PloS one* 2014;9:e107166.

67. Sun J, Aswath K, Schroeder SG, Lippolis JD, Reinhardt TA, Sonstegard TS. MicroRNA expression profiles of bovine milk exosomes in response to *Staphylococcus aureus* infection. *BMC Genomics*. 2015;16:806.
68. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi, P Xu, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci* 2016.; 8(3): 133–137.
69. Wong DT. Salivaomics. *J Am Dent Assoc*. 2012;143:19S-24S.
70. Gallo A, Alevizos I. Isolation of circulating microRNA in saliva. *Methods Mol Biol*. 2013; 2013;1024:183-90.
71. Yoshizawa JM, Wong DT. Salivary microRNAs and oral cancer detection. *Methods Mol Biol*. 2013;VOL:313-24.
72. Zahran F, Ghalwash D, Shaker O, Al-Johani K, Scully C. Salivary microRNAs in oral cancer. *Oral Dis*. 2015;21:739-47.
73. Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E, et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res*. 2009;15:5473-7.
74. Chen C. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol*. 2005;353:1768.
75. Kim SH, Lee SY, Lee YM, Lee YK. MicroRNAs as biomarkers for dental diseases. *Singapore Dent J*. 2015;36:18-22.
76. Salazar C, Nagadia R, Pandit P, Cooper-White J, Banerjee N, Dimitrova N, et al. A novel saliva-based microRNA biomarker panel to detect head and neck cancers. *Cell Oncol (Dordr)*. 2014;37:331-8.
77. Nayar G, Gauna A, Chukkapalli S, Velsko I, Kesavalu L, Cha S. Polymicrobial infection alter inflammatory microRNA in rat salivary glands during periodontal disease. *Anaerobe*. 2016;38:70-75.
78. Schmalz G, Li S, Burkhardt R, Rinke S, Krause, Haak R, et al. MicroRNAs as Salivary Markers for Periodontal Diseases: A New Diagnostic Approach?. *BioMed Research Int*. 2016.
79. Xie Z, Yin X, Gong B, Nie W, Wu B, Zhang X, et al. Salivary microRNAs show potential as a noninvasive biomarker for detecting resectable pancreatic cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015;8:165-73.
80. Majem B, Rigau M, Reventós J, Wong DT. Non-coding RNAs in saliva: emerging biomarkers for molecular diagnostics. *Int J Mol Sci*. 2015;16:8676-98.
81. Humeau M, Vignolle-Vidoni A, Sicard F, Martins, Bournet B, Buscail L, et al. Salivary microRNA in pancreatic cancer patients. *PloS one* 2015;10:e0130996.
82. Hizir MS, Balcioglu M, Rana M, Robertson NM, Yigit MV. Simultaneous detection of circulating oncomiRs from body fluids for prostate biomarkers for early detection of lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2011;4:575-86.
54. Sarasin-Filipowicz M, Krol J, Markiewicz I, Heim MH, Filipowicz W. Decreased levels of microRNA miR-122 in individuals with hepatitis C responding poorly to interferon therapy. *Nat Med*. 2009;15:31-33.
55. Morita K, Taketomi A, Shirabe K, Umeda K, Kayashima H, Ninomiya M, et al. Clinical significance and potential of hepatic microRNA-122 expression in hepatitis C. *Liver Int*. 2011;31:474-84.
56. Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, et al. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56:167-75.
57. Casey MC, Kerin MJ, Brown JA, Sweeney KJ. Evolution of a research field—a micro (RNA) example. *Peer J* 2015;3:e829.
58. Allantaz F, Cheng DT, Bergauer T, Ravindran P, Rossier MF, Ebeling M, et al. Expression profiling of human immune cell subsets identifies miRNA-mRNA regulatory relationships correlated with cell type specific expression. *PloS one* 2012;7:e29979.
59. Muljo SA, Ansel KM, Kanellopoulou C, Livingston DM, Rao A, Rajewsky K. Aberrant T cell differentiation in the absence of Dicer. *J Exp Med*. 2005;202:261-9.
60. Blüml S, Bonelli M, Niederreiter B, Puchner A, Mayr G, Hayer S, et al. Essential role of microRNA-155 in the pathogenesis of autoimmune arthritis in mice. *Arthritis Rheum*. 2011;63:1281-8.
61. Wang G, Tam L, Li E, Kwan B, Chow K, Luk C, et al. Serum and urinary free microRNA level in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011;20:493-500.
62. Murata K, Yoshitomi H, Tanida S, Ishikawa M, Nishitani K, Ito H, et al. Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:R86.
63. Tanaka S, Suto A, Ikeda K, Sanayama Y, Nakagomi D, Iwamoto T, et al. Alteration of circulating miRNAs in SSc: miR-30b regulates the expression of PDGF receptor. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52:1963-72.
64. Yamada H, Itoh M, Hiratsuka I, Hashimoto S. Circulating microRNAs in autoimmune thyroid diseases. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81: 276-81.
65. Correia CN, Nalpas NC, McLoughlin KE, Browne JA, Gordon SV, MacHugh DE, et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers of infectious disease. *Front Immunol*. 2017; 8:118.
66. Fabres-Klein M, Aguilar A, Silva M, Silva D, Ribon A. Moving towards the immunodiagnosis of staphylococcal intramammary infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:2095-2104.

urinary bladder cancer. *Urol Oncol*. 2010;655-61.

98. Tölle A, Jung M, Rabenhorst S, Kilic E, Jung K, Weikert S. Identification of microRNAs in blood and urine as tumour markers for the detection of urinary bladder cancer. *Oncol Rep*. 2013;30:1949-56.

99. Wang G, Chan ESY, Kwan BCH, Li PKT, Yip SKH, Szeto CC, et al. Expression of microRNAs in the urine of patients with bladder cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2012;10:106-13.

100. Ramezani A, Devaney JM, Cohen S, Wing MR, Scott R, Knobloch S, et al. Circulating and urinary microRNA profile in focal segmental glomerulosclerosis: a pilot study. *Eur J Clin Invest*. 2015;45:394-404.

101. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*. 2011;254.

102. Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpenning M, Giuliano AE, Hoon DS. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer. *Clin Chem*. 2011;57:84-91.

103. Erbes T, Hirschfeld M, Rücker G, Jaeger M, Boas J, Iborra S, et al. Feasibility of urinary microRNA detection in breast cancer patients and its potential as an innovative non-invasive biomarker. *BMC Cancer*. 2015;15:193.

104. Debernardi S, Massat NJ, Radon TP, Sangaralingam A, Banissi A, Ennis DP, et al. "Noninvasive urinary miRNA biomarkers for early detection of pancreatic adenocarcinoma. *Am J Cancer Res*. 2015;5:3455.

105. Zeng L, Cui J, Wu H, Lu Q. The emerging role of circulating microRNAs as biomarkers in autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2014;47:419-29.

106. Li Y, Fang X, Li QZ. Biomarker profiling for lupus nephritis. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2013;11:158-65.

107. Te JL, Dozmorov IM, Guthridge JM, Nguyen KL, Cavett JW, Kelly JA, et al. Identification of unique microRNA signature associated with lupus nephritis. *PloS one* 2010; 5: e10344.

cancer staging using nanographene oxide. *ACS Appl Mater Interfaces*. ;6:14772-8.

83. Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor, Wang MB, Wong DT. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol* 2000. 2016;70:38-52.

84. Alevizos I, Illei GG. MicroRNAs in Sjögren's syndrome as a prototypic autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2010;9:618-21.

85. Vrie M, Deegens J, Eikmans M, Vlag J, Hilbrands L. Urinary microRNA as biomarker in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2016.

86. Netto GJ. Molecular biomarkers in urothelial carcinoma of the bladder: are we there yet?. *Nat Rev Urol*. 2012;9:41-51.

87. Mlcochova H, Hezova R, Stanik M, Slaby O. Urine microRNAs as potential noninvasive biomarkers in urologic cancers. *Urol Oncol*. 2014; 41:e1-41.

88. Kakimoto Y, Tanaka M, Kamiguchi H, Ochiai E, Osawa M. MicroRNA Stability in FFPE Tissue Samples: Dependence on GC Content. *PloS one* 2016;11:e0163125.

89. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:10513-8.

90. Mall C, Rocke DM, Durbin-Johnson B, Weiss RH. Stability of miRNA in human urine supports its biomarker potential. *Biomark Med*. 2013;7:623-31.

91. Balzano F, Deiana M, Dei Giudici S, Oggiano A, Baralla A, Pasella S, et al. miRNA stability in frozen plasma samples. *Molecules* 2015;20:19030-40.

92. Guancial EA, Bellmunt J, Yeh S, Rosenberg JE, Berman DM. The evolving understanding of microRNA in bladder cancer. *Urol Oncol*. 2014;41:e31-41.

93. Hayes JH, Barry MJ. Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: a review of current evidence. *J Urol*. 2014;311:1143-9.

94. Stuopelyt K, Dani nait K, Jankevi ius F, Jarmalait S. Detection of miRNAs in urine of prostate cancer patients. *Medicina (Kaunas)*. 2016;52:116-24.

95. Ben-Dov IZ, Whalen VM, Goilav B, Max KE, Tuschl T. Cell and microvesicle urine microRNA deep sequencing profiles from healthy individuals: observations with potential impact on biomarker studies. *PloS one* 2016;11:e0147249.

96. Cheng Y, Deng X, Yang X, Li P, Zhang X, Li P, et al. Urine microRNAs as biomarkers for bladder cancer: a diagnostic meta-analysis. *Oncotargets Ther*. 2015;8:2089.

97. Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to

## Circulating microRNAs: valuable biomarkers in biological fluids

Majid Khoshmirsafa, PhD, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Immunology Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [khoshmirsafa.m@tak.iums.ac.ir](mailto:khoshmirsafa.m@tak.iums.ac.ir)

Farhad Seif, PhD, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Immunology Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [Farhad.seif@outlook.com](mailto:Farhad.seif@outlook.com)

Monireh Mohsenzadegan, PhD, Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [monirehmohsenzadegan@gmail.com](mailto:monirehmohsenzadegan@gmail.com)

Mohammad Najafi, PhD, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [nbsmmsbn@iums.ac.ir](mailto:nbsmmsbn@iums.ac.ir)

Kobra Maokhtarian, PhD, Medical Plant Research Center, Shahrekord university of Medical Sciences, Shahrekoerd, Iran. [k.mokhtarian@yahoo.com](mailto:k.mokhtarian@yahoo.com)

\*Mehdi Shekarabi, PhD, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Immunology Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (\*Corresponding author). [shekarabi.m@iums.ac.ir](mailto:shekarabi.m@iums.ac.ir) , [m\\_shekarabi@yahoo.com](mailto:m_shekarabi@yahoo.com)

### Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are severely protected sequences and single stranded structures approximately 18 to 25 nucleotides in length. The crucial role of miRNAs has been previously proved in the regulation of the gene expression in post transcriptional modification events of messenger RNA. The precise mechanism by which miRNAs modulate translational repression of mRNAs is not fully determined. However, two-third of human messenger RNAs might be miRNA targets nearly. MiRNAs involved in the regulation of gene expression and they play fundamental roles in routine cellular functions, such as cell growth and development, proliferation, differentiation and apoptosis. In addition, increasing evidence has suggested that miRNAs play an essential role in the generation, regulation and homeostasis of immune responses. Several studies in malignancies, infectious and autoimmune diseases, have shown changes in the expression level of miRNAs in cells and tissues and also their direct and indirect associations with diseases are shown. MiRNAs not only exist intracellularly, but also are found in body fluids in combination with lipoproteins or enclosed in the packaging of the bilayer membrane, which are called exosomes. Biological body fluids consist of different samples with specific features, including serum (plasma), saliva, urine, cerebrospinal fluid, tear, semen, Pleural fluid, Peritoneal Fluid, Broncho alveolar lavage (BAL), amniotic fluid, as well as milk (Colostrum). Despite the presence of abundant ribonuclease in body fluids such as serum and urine, circulating miRNAs are stable and easy to be quantitatively measured. The variation in the expression of circulating miRNAs in the biological fluids of patients has enhanced the possibility that miRNAs may serve as novel and accessible diagnostic and prognostic biomarkers. However, the biological function and secretory mechanisms, as well as the meaning of this variation in the expression of miRNAs, remain largely uncertain. Recently, study of circulating miRNAs has opened new window in research to find novel, safe and noninvasive biomarkers in medical science. The potential of circulating miRNAs as biomarkers of disease has mainly been demonstrated for various types of malignancies and autoimmune disease. Newly, however, attention has focused on the use of circulating miRNAs as biomarkers infectious diseases such as human tuberculosis viral hepatitis. The purpose of present review is to analyze and describe the expression of circulating miRNAs in biological fluids. Therefore, we represent the recent studies which are conducted in this field to identify and introduce effective biomarkers for the diagnosis and monitoring treatment in different diseases.

Keywords: MicroRNAs, Circulating microRNA, Biological fluids and biomarker