



NANOTEKNOLOJİ İLE KARSİNOGENEZ SÜRECİNDE miRNA'LARIN ROLÜ VE PROFİLLENMESİ

Yeşim Dağlıoğlu^{1,a}, Betül Yılmaz Öztürk^{1,b,*}

Ordu Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve
Araştırma Merkezi (ARUM), Eskişehir, Türkiye

*Corresponding Author:
E-mail: byozturk@ogu.edu.tr

(Received 13th April 2022; accepted 03th June 2022)

a:  ORCID 0000-0001-8740-1162, b:  ORCID 0000-0002-1817-8240

ÖZET

MikroRNA'lar (miRNA'lar), protein kodlayan genlerin, çeşitli onkogenlerin veya tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu düzenleyen, protein kodlamayan küçük RNA'ların çok yeni bir sınıfıdır. Farklı kanser türlerinin farklı aşamalarda çeşitli miRNA'ların benzersiz ekspresyon profilleri, miRNA'ların hastalık teşhis ve tedavisinde yeni biyobelirteçler olarak işlev görebileceğini ve miRNA gen tedavisi için yeni bir strateji sunabileceği düşünülmektedir. miRNA'nın normal hücrel ve hastalık süreçlerindeki rolünün araştırılması son yıllarda bilim insanları arasında oldukça popüler hale gelmiştir. miRNA'ların ekspresyon profili, kanser hastalarında tümör başlangıcını, ilerlemesini ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için teşhis ve prognostik biyobelirteçler olarak kanser kliniklerine girmiştir. Bununla birlikte, anti-miRNA'lar ve antisenseoligonükleotitler, araştırma ve klinik amaçlar için *in vitro* ve *in vivo* olarak spesifik miRNA ekspresyonunu inhibe etmek için kullanılmıştır. Bu derlemede, miRNA'ların kanserle ilişkisi (aşağı/yukarı regülasyonu), onkogenler veya tümör süpresörler (baskılayıcılar) olarak işlevleri, terapötikler olarak kullanımı ve bu uygulamaların nanoteknoloji tabanlı miRNA teknolojilerinden bahsedilmiştir.

Anahtar kelimeler: miRNA, Kanser, RNA, Nanoteknoloji, Onkogen, Terapötik, Tümör süpresör

THE ROLE AND PROFILING OF miRNA'S IN THE PROCESS OF CARCINOGENESIS WITH NANOTECHNOLOGY

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are a very new class of non-protein-coding small RNAs that regulate the expression of protein-coding genes, various oncogenes or tumor suppressor genes. The unique expression profiles of different miRNAs at different stages in different cancer types are thought that miRNAs may function as new biomarkers for disease diagnosis and treatment and may offer a new strategy for miRNA gene therapy. Investigating the role of miRNA in normal cellular and disease processes has become very popular among scientists in recent years. The expression profiling of miRNAs has entered cancer clinics as diagnostic and prognostic biomarkers to assess tumor initiation, progression, and response to therapy in cancer patients. Anti-miRNAs and antisenseoligonucleotides have been used to inhibit specific miRNA expression *in vitro* and *in vivo* for research and clinical purposes. In this review, the relationship of miRNAs with cancer (down/up regulation), their role as oncogenes or tumor suppressors, their use as therapeutics, and nanotechnology-supported miRNA technology are discussed.

Keywords: miRNA, Cancer, RNA, Nanotechnology, Oncogene, Therapeutic, Tumor suppressor

GİRİŞ

MikroRNA'lar (miRNA'lar), çok hücreli organizmaların tüm biyolojik yollarında önemli rol oynayan 20-22 nükleotidlik (nt) RNA'larda kodlanmayan küçük bölgelerdir [1]. miRNA'lar, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz dahil olmak üzere temel biyolojik süreçleri koruyarak geri bildirim mekanizmalarında işlev görür [2, 3]. Tek veya küçük bir miRNA alt kümesinin deregülasyonu, çok sayıda mRNA'nın ekspresyonunu değiştirir [4, 5]. Bu durum, hücrelerin dönüşümüne sebep olur. Örneğin, miRNA'lar kanser dokularında anormal şekilde eksprese edilir ve düzensiz miRNA'lar ile kanserdeki tümör baskılayıcı genlerin inhibisyonu arasında sıkı bir bağlantı vardır [6, 7]. MiRNA'lar kanser teşhis ve tedavisi alanında yeni bir bakış açısı sağlamıştır. Çok yakın bir geçmişte keşfedilip tanınmalarına rağmen, miRNA'lar transkripsiyon sonrası en önemli gen düzenleyicileri haline gelmiştir. Birçok çalışma, miRNA'ların %30'dan fazla protein kodlayan genlerin ekspresyonunu düzenlediğini göstermiştir [8, 9]. Birçok çalışma, miRNA'ların çoklu biyolojik ve metabolik ilerlemelerde çok yönlü rol oynadığını göstermiştir [10, 11]. Örneğin, kanserle ilişkili olarak tespit edilen ilk miRNA'lar, 13q14 gen bölgesinde lokalize olan *miR15* ve *miR16* olup kronik lenfositik lösemide karakterize edilmiştir. Daha sonra, diffüz büyük B hücreli lenfomalı hastaların serumunda tümörle ilişkili miRNA'lar yüksek seviyede tespit edilmiştir [12, 13]. Son araştırmalar, miRNA'ların, farklı kanser türlerinin farklı evrelerinde benzersiz ekspresyon profillerine sahip olduğu ve birçok hastalık ve viral enfeksiyonlarda önemli rol oynadığını göstermiştir. Bu sonuç, miRNA'ların hastalık teşhisi için yeni bir biyobelirteç olarak işlev görebileceğini ve miRNA'ların gen tedavisi için yeni bir strateji gerçekleştirebileceğini düşündürmüştür [14].

miRNA'LARIN BİYOSENTEZİ

İlk miRNA 1993 yılında Harvard Üniversitesi'nde Ambrose Group tarafından keşfedilmiştir [15]. miRNA'nın keşfi, nematod türü olan *Caenorhabditis elegans'ta* larvadan ergine geçişi bozan bir mutasyonun tanımlanmasıyla başlamıştır [16]. 1993 yılında, Lee ve meslektaşları, bu mutasyonun fenotipi için *lin-4* adı verilen protein kodlamayan küçük bir RNA'nın gerekli olduğundan bahsetmişlerdir. Sonraki araştırmalarda, *lin-4*'ün bir antisens RNA-RNA etkileşimi yoluyla *lin-14mRNA*'nın 3' çevrilmeyen bölgesine (3' UTR) bağlanarak *lin-14* gen ifadesini negatif olarak kontrol edildiği ortaya çıkmıştır [14, 15, 17]. Bununla birlikte, miRNA'ların önemli işlevleri başka bir miRNA (*let-7*). keşfedilinceye kadar bilinmiyordu. Daha sonra miRNA'lar, çeşitli organizmalar (*C. elegans*, *Drosophila melanogaster*) ve insanlarda tanımlanmasıyla geniş ve benzer küçük RNA sınıfları keşfedilmiştir [18-20]. Bu keşiften sonra miRNA ile ilgili araştırmalar, biyoloji ve tıpta en yeni araştırma konularından biri haline gelmiştir. miRNA'lar, herhangi bir ökaryotta tüm biyolojik ve metabolik olaylarda işlev görür. Şimdiye kadar, 5000'den fazla miRNA tanımlanmış ve miRNA veri tabanında depolanmıştır [21, 22, 14]. miRNA'nın biyogenezi genellikle, bir pri-miRNA öncüsünün RNA polimeraz II tarafından transkript edildikten sonra çekirdekte *DROSHA* ve *DGCR8* gibi endonükleaz enzimleri tarafından işlenir ve yaklaşık 80-100 nükleotitten oluşan pre-miRNA sekansını oluşturur [23, 24]. *Exportin-5*, pre-miRNA'ların çekirdekten sitoplazmaya taşınmasına yardımcı olur [25]. Burada sitoplazmik ribonükleaz *DICER*, onu çift sarmallı olgun miRNA'ya böler [26]. Olgun miRNA duplexi daha sonra tamamlayıcı haberci RNA'nın (mRNA) translasyonunu düzenleyen RNA kaynaklı

susturma kompleksini (*RISC*) oluşturan *Argonaute* (*Ago*) proteinlerine bağlanır. Olgun miRNA, çekirdek bölgesi aracılığıyla hedef mRNA'larının 3' çevrilmeyen bölgesinde (3' UTR) tamamlayıcı dizileri tanır, tipik olarak miRNA'da 2-7 konumludur. Son çalışmalarda, miRNA'ların hedef mRNA'nın 5' UTR'sine veya açık okuma çerçevesine (ORF) bağlandığı öne sürülmüştür [25]. Düzenleme için yüksek tamamlayıcılık gerekli olmadığından tek bir miRNA çok sayıda (yüzlerce) mRNA'yı hedefleyebilir ve ortaya çıkan anormal miRNA ifadesi kanserle ilgili sinyal yolları üzerinde oldukça etkisi olan çok sayıda transkripti etkileyebilir [26-29].

miRNA'LARIN KANSERE KATILIMI

Spesifik bir kanser tipinde spesifik miRNA'ların şaşırtıcı anormal ifadesi, bu miRNA'ların kanser tedavisi için yeni bir hedef ve gen tedavisi için olası yeni bir yaklaşım olabileceği öngörülmektedir [14]. Çünkü, miRNA genlerinin yarısından fazlasının kanserle ilişkili genomik bölgelerde veya kırılmalı bölgelerde bulunduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Geniş bir kanser doku/hücre örneklerinden alınan mikrodizi ekspresyon verileri, anormal miRNA ekspresyonunun istisnadan ziyade, bir kural olduğunu göstermiştir. miRNA'ların meme, kolon, mide, akciğer, prostat ve tiroid gibi birçok farklı kanser türünde rol oynadığı bildirilmiştir [30-32]. Örneğin, *Let-7*, akciğer kanserinde dikkate değer bir miRNA'dır. Birkaç araştırma, *let-7* ekspresyon seviyesinin akciğer kanseri patogenezi ile ilişkili olduğunu ve akciğer kanser dokularında *let-7* ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını göstermiştir [32-33]. Takamizawa ve meslektaşları, *let-7*'nin akciğer kanserlerinde zayıf bir şekilde eksprese edildiğini ve *let-7* ekspresyonunun azalmasının, hastalık evresinden bağımsız olarak kısılmış ameliyat sonrası sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu kaydetmişlerdir [32]. Daha ilginç ve daha da önemlisi, bir *in vitro* çalışma, A549 akciğer adenokarsinom hücre hatlarında *miRNAlet-7*'nin geçici aşırı ekspresyonunun akciğer kanseri hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [32, 14]. Son araştırmalar, *let-7*'nin, RAS ve yüksek mobilite grubu A2 (HMGA2) dahil olmak üzere birkaç onkogeni hedefleyerek tümör büyümesini engellediğini göstermiştir [32-35]. HMGA2 geni çok çeşitli iyi ve kötü huylu tümörlerde eksprese edilmektedir. HMGA2 geninin aşırı ekspresyonu, spesifik tümörlerin başlamasına neden olmaktadır [36-38]. *miRNA let-7*, korunmuş yedi HMGA2 3' UTR tamamlayıcı bölgesine bağlanarak HMGA2 gen ekspresyonunu düzenler [8, 14, 34]. *let-7* ve HMGA2 arasındaki bağlanma eşleşmesini bozmak, birkaç hücre hattında ankraktan bağımsız büyümeyi artıran ve daha fazla onkojenik dönüşümü destekleyen HMGA2'nin aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır [39]. Bu sonuçlar, miRNA *let-7*'nin aşırı eksprese edilmesinin akciğer kanseri büyümesini engelleyebileceğini ve hatta gelecekte akciğer kanserini iyileştirebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu olasılığın hala canlı hayvan modelinde ve son olarak klinik deneylerde *in vivo* deneylerle test edilmediğinden test edilmesi gerekmektedir [14]. Şimdiye kadar yayınlanan bilimsel makalelerin birçoğu bireysel mRNA hedefine odaklansa da, çoğu miRNA aynı hücresel yolda bulunabilen birden fazla mRNA'yı hedefleyerek etkilerini göstermektedir. Bazı çalışmalar, aynı hedef mRNA'yı baskılayabilen farklı dizilere sahip fazlalık olduğunu da göstermiştir [40]. miRNA aşırı ekspresyonu veya ablasyonu içeren fare modelleri, miRNA'lar ve kanser gelişimi arasında nedensel bağlantılar olduğunu göstermiştir [29, 41-42].

miRNA'LARIN ANORMAL İFADESİ

Kanser de dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkta miRNA ekspresyon seviyelerinin yaygın şekilde bozulduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Tümör dokuları ve kültürlenmiş tümör hücreleri sıklıkla olgun miRNA'ların önemli ölçüde azalmış ekspresyon seviyelerini gösterir [29, 43]. miRNA'ların anormal ifadesi için farklı mekanizmalar kaydedilmiştir. Bunlardan en önemlileri; genetik değişiklikler ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP), epigenetik susturma ve miRNA biyogenez yolağındaki hatalardır.

Genetik Değişiklikler ve Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP)

İnsan miRNA genlerinin tam haritalanması ile, miRNA'ların büyük çoğunluğunun kırılmalı bölgeler, kansere özgü translokasyon sınır noktaları, tekrarlayan diziler ve CpG adaları ile ilişkileri açığa çıkarılmıştır [44]. Bununla birlikte, bazı çalışmalar ise bu tür bir ilişkinin doğrudan olmadığını ve spesifik kanser tipine bağlı olduğunu göstermiştir [45]. Ayrıca, tek nükleotidlerde polimorfizmlerin (SNP'ler) varlığı yaygın olarak bilinmekte ve kanserle ilgili yollarda SNP'lerin miRNA hedefleri üzerindeki etkisini gösteren kanıtlar bulunmaktadır [29, 46]. SNP'e bağlı olarak fonksiyonda önemli bir kazanç olarak onun miRNA hedefi ile etkileşimini artırabilir ve böylece bir tümör baskılayıcı gen gibi düzenleyici fonksiyonunu geliştirebilir. Buna karşılık, SNP'ye bağlı fonksiyon kaybı, daha sonra bir onkogen olarak görev yapan miRNA'nın ekspresyonunun artmasına neden olabilir [47]. Ek olarak, miRNA'ların hedef bölgelerindeki SNP'ler de miRNA tarafından bozunmadan kaçmasına neden olabilir [29, 48].

miRNA Ekspresyonunun Epigenetik Düzenlenmesi

Daha önceki çalışmalarda, miRNA ekspresyonundan bu yana epigenetiğin, yani hiper veya hipo-metilasyonun (karsinogenezde erken olay) rol oynayıp oynamadığı ve miRNA genlerinin aktivitesini etkileyip etkilemediği araştırılmıştır. CpG adacıklarının yakınında bulunan genler metilasyon süreçlerinden daha kolay etkilenebilir [35, 49-50]. Bilimsel literatürde, miRNA'ların aktivitesini etkileyen birkaç DNA metilasyon örneği açıklanmıştır. Bunlardan biri, kolon kanseri hücre hattında karşılaştırmalı analiz sonucunda test edilen miRNA ekspresyonunun yaklaşık %10'unun DNA metilasyonu ile düzenlendiği ve miRNA'nın geri kazanılması için kısmi metilasyon azalmalarının yeterli olmadığı kaydedilmiştir [29]. Diğerinde ise, tanımlanan kolorektal kanserlerde tarama araştırmalarıdır. Komşu CpG adalarının hiper-metilasyonu nedeniyle *miR-34b* ve *miR-34c*'nin epigenetik susturulması ve metilasyon sürecindeki değişikliklerin *miR-9* ailesi genlerini etkilediği gösterilmiştir [52]. *miR-9-1*'in metilasyonunun kolorektal kanser hücrelerinde (KKH) lenf nodu metastazı ile ilişkilidir [53]. *miR-200c/141*'in metilasyonu ile meme kanseri hücrelerinin istilacı kapasitesi arasında anlamlı ve pozitif korelasyon kaydedilmiştir [54]. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (KHDAK) promotör metilasyonu, *miR-200c* ekspresyonunun kaybı ile ilişkilidir ve bu da sırasıyla zayıf farklılaşma, lenf nodu metastazı ve daha zayıf E-kadherin ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. DNA metilasyonuna ek olarak, histon asetilasyonunun da düzensiz kanserlerde başka bir epigenetik fenomendir [55]. Meme kanseri hücrelerinde, histon deasetilaz inhibisyonunun miRNA seviyelerinde değişiklik ile sonuçlandığı gösterilmiştir

[55]. Mesane kanseri hücrelerinde, 5-aza-2' deoksisitidin (5-Aza-CdR) ve histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü 4-fenilbütirik asit (PBA) ile kombine bir tedavi ile aralarında *miR-127*'nin de bulunduğu çoklu miRNA'lar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [50]. 5-Aza-CdR ve PBA tarafından *miRNA-127*'nin spesifik indüksiyonu/aktivasyonu, çinko parmak baskılayıcı BCL6 geninin transkripsiyonunu baskılamasıyla insan kanser hücrelerinde apoptozu indükler [50].

miRNA yolağındaki kusurlar şunlardır; İnsanlarda miRNA'ların çoğu, kodlamayan veya kodlayan transkriptlerin intronları tarafından kodlanır. Bununla birlikte, bazı miRNA'ların eksonik bölgeler tarafından kodlandığı bildirilmiştir. miRNA'yı kontrol eden genler genellikle kümelenir ve polisistronik mesajlar olarak kopyalanır veya mRNA'lardan çıkarılır [29, 56]. Çoğu miRNA geni için promotörlerin kesin konumları henüz haritalanmamıştır. Ancak bunlar, CpG adalarının toplu analizinden, RNA dizilemesinden ve kromatin immün çöktürmesinden ve ardından ChIP dizilemesinden çıkarılabilir [57]. Çok sayıda Pol-II ile ilişkili transkripsiyon faktörünün, birkaç miRNA genini aktive ettiği veya bastırdığı bildirilmiştir. Bazı miRNA'ların bolluğunun da RNA stabilite seviyesini düzenler [58]. Son zamanlarda, Ser/Thr protein kinaz/endoribonükleaz IRE1a'nın endoplazmik retikulum stresi tarafından aktive edildiği ve *pre-miR-17*, *pre-miR-34a*, *pre-miR-96* ve *pre-miRNA* gibi bazı seçilmiş pre-miRNA'ları parçaladığı gösterilmiştir. *miR125b*, proapoptotik kaspaz 2'de translasyonel azalmaya yol açmıştır [59]. Önceki raporlar ayrıca Myc geninin onkojenik *miR-17-92* kümesini yukarı regüle etmekten sorumlu olduğunu göstermiştir. Myc aktivasyonunun başlıca etkisi çoklu miRNA'ların bastırılmış ekspresyonu ve ayrıca *let-7*, *miR15a/16-1*, miRNA gibi çeşitli anti-proliferatif, pro-apoptotik ve tümör baskılayıcı etkilerin aşağı regülasyonudur [60, 61]. *miRNA-26a*, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine ve hücre apoptozunun artmasına katkıda bulunur. *miR-34* aile üyeleri hayvanlarda ısı stresi, ışınlama, yaşlanma, açlık ve dauer oluşumu gibi farklı çevresel stres durumlarında daha fazla bolluk gösteren miRNA'lardan biridir [62]. Benzer şekilde, Ras geninin aktivasyonunun k-Ras mutant pankreas kanserlerinde *miR-143/145* kümesinin baskılanmasıyla sonuçlanır [63]. p53 tümör baskılayıcı geni, *miR34*, *miR-200* gibi birkaç miRNA'nın ekspresyonunu düzenler. Ayrıca, *miR 15/16* vb. ve *miR34* ailesinin tümü hücre proliferasyonunu, apoptozu teşvik etmede önemli bir rol oynayan siklin D ve E2, CDK4, CDK6, Myc ve BCL2'yi hedefler, p53 ile indüklenen *miR-34* hücre büyümesini negatif olarak düzenleyebilir [64, 65, 29, 64-66].

miRNA'LARIN HEDEFLİ KANSER TERAPÖTİKLER OLARAK KULLANILMASI

Tümör belirteçleri normalde kanseri teşhis etmeye yöneliktir, ancak bunların çoğu spesifik değildir ve hastanın vücut seviyelerindeki değişiklik kanser dışındaki nedenlere bağlı olabilir [67]. Bu nedenle, miRNA'lar gibi yeni hassas ve spesifik kanser biyobelirteçlerinin kullanılmasına oldukça ihtiyaç vardır. Bunlar, temel hücresel fizyolojik işlevleriyle tanınan, mRNA'nın gen ekspresyonunu düzenleyen küçük RNA dizileridir (18-25 nt). Birçok çalışma, miRNA'ların ekspresyon seviyeleri ile kanser gibi spesifik hastalıkların ortaya çıkması arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. miRNA'ların belirli hücre tipleri ve hastalıklarda yukarı veya aşağı doğru regüle edildiği

kanıtlanmıştır. miRNA'lar onkogen veya tümör süpresörler olarak işlev görebilirler [68]. Böylece miRNA'lar erken teşhis, prognoz ve kanser tedavisi için biyobelirteç olarak kullanılabilir. miRNA'lar, gen ekspresyonunun belirleyici düzenleyicileri olarak ortaya çıkmıştır ve tümörjenezin ve kanserin metastatik ilerlemesinin temel adımlarını modüle etme yeteneğine sahiptir. Bilinen miRNA'ların yaklaşık %50'si kanserle ilişkili genomik bölgelerde bulunur [69]. Ayrıca, genom çapında miRNA profillemeye çalışmaları, epigenetik mekanizmalar nedeniyle kanserde miRNA'ların geniş çapta anormal ekspresyonunu göstermiştir [70]. miRNA'ların işlevsel katılımına ilişkin çok sayıda çalışmanın sonucu olarak miRNA'ların etkili kanser terapötik hedefleri olarak potansiyel kullanımlarını önermektedir. miRNA'lar genel olarak onkojenik ve tümör süpresörler (baskılayıcılar) olarak iki alt tipe ayrılır [71].

Onkojenik miRNA'lar

Onkojenik miRNA'lar (oncomiR'ler) genellikle kanserde aşırı eksprese edilir ve bunların fonksiyonel kazanımları tümör oluşumunu teşvik eder [1]. OncomiR'lerin aşırı ekspresyonunun epigenetik ve transkripsiyonel düzensizlik nedeniyle veya gen amplifikasyonu yoluyla çeşitli kanserlerde meydana gelir [43, 70]. *miR-21*, oncomiR olarak tanımlanan ilk miRNA'lardan biridir. *MiR-21*'in aşırı ekspresyonu, pankreas, mide, meme, kolon, prostat, akciğer, karaciğer ve glioblastoma dahil olmak üzere birçok insan malignitesinde gözlenir [14, 72]. *miR-21*'in, sikline bağımlı kinaz 1 (Cdk1) inhibitörü p21'i aktive ederek hücre döngüsü ilerlemesini önleyen bir tümör baskılayıcı olan PDCD4'ü (programlanmış hücre ölümü proteini 4) inhibe ederek tümör hücresi proliferasyonunu destekler [71]. *miR-17-92*, altı miRNA'dan (*miR-17*, *miR-18a*, *miR-19a*, *miR-20a*, *miR-19b-1* ve *miR-92-1*) oluşan polisistronik bir kümedir ve hepsi iyi karakterize edilmiş onkojenik miRNA'lardır [73]. Gen ekspresyonu analizi, kolon, prostat, pankreas, akciğer, meme ve mide kanserinde bu miRNA'ların aşırı ekspresyonunu doğrular [71, 73]. *miR-10b*, kanserin patobiyolojisinde önemli rol oynadığı bilinen bir diğer onkojenik miRNA'dır. *miR-10b*, kanser hücrelerinin çevredeki stromaya invazyonunu ve uzak bölgelere metastazını teşvik eder [74]. *miR-10b*'nin yukarı regülasyonu, hepatoselüler karsinom ile meme ve pankreas adenokarsinomlarının metastatik örnekleri ve glioblastomlar dahil olmak üzere bir dizi kanserde bulunmuştur [74, 75]. Onkojenik *miR-155*, hematopoietik kökenli kanserlerde önemli roller oynar [76-78]. B-hücre entegrasyon kümesinin (BIC) filogenetik olarak korunan bölgesinde bulunur, bu da *miR-155*'in BIC geninin aktivitesinden sorumlu olabileceğini düşündürür [77]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada meme kanseri hücrelerinde *miR-155*'in aşırı ekspresyonunun, SOCS1 ekspresyonunu inhibe ederek sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) yapısal aktivasyonuna yol açtığını göstermiştir [79]. Ayrıca *miR-29b*, *miR-135b* ve *miR-221*'in de sırasıyla servikal, lenfoma ve papiller tiroid kanserlerinde aşırı eksprese edildiğini bildirilmiştir [71, 80-82].

Tümör Süpresör (Baskılayıcı) miRNA'lar

miRNA gen düzenlemesinin kanonik yolağı, RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) ile bağlanma yoluyla hedef mRNA'nın bölünmesi veya bastırılmasıdır. miRNA'lar en yaygın olarak mRNA'nın 3'UTR'sini hedefler. Bağlanma için hedef mRNA ile tam tamamlayıcılık gerekli değildir ve her miRNA'nın birden fazla mRNA

hedefi olabilir [83]. Tümör progresyonunun miRNA aracılı aşağı regülasyonunun anlaşılması bu dizilerin terapötik uygulama potansiyeline büyük ilgisi ile sonuçlanmıştır. Örneğin, *let-7*, *lin-4* ile birlikte *Caenorhabditis elegans*'ta ilk keşfedilen miRNA'lardır [15]. *Let-7*, insanlarda RAS ve yüksek mobilite grubu AT-çengel 2 (HMGA2) gibi onkogenlerin baskılanması dahil olmak üzere güçlü bir tümör baskılayıcı kapasiteye sahiptir [83, 84]. Daha yakın zamanlarda, *miRNA-34a* ayrıca güçlü bir tümör süpresör (TS) olarak ortaya çıkmıştır. *MiR-34a*, epitelyal mezenkimal geçişi (EMT) negatif olarak düzenleyerek p53 yolağını baskılayan tümör ile sinerjik bir ilişkiye sahiptir. Tümör ilerlemesi sırasında, TS miRNA ekspresyonu tükenir ve onkojenik yol sinyalinin ilerlemesi sağlanır. Tümör bölgesinde TS miRNA'nın yenilenmesi, kanser tedavisi için çekici bir seçenektir. miRNA'lar, ribonükleazlar tarafından kolay bozunmaya yol açan korumasız 30-hidroksi ve 50-fosfat uçlarına sahip kısa tek iplikli diziler olduklarından, sadece geçici olarak eksprese edilirler ve nispeten kısa yarı ömürleri vardır. miRNA'lar, düşük ekspresyonları veya fonksiyonel kayıpları malign hücre fenotipinin gelişimine katkıda bulunduğunda tümör baskılayıcı olarak çalışır [85-87]. Çalışmalardan elde edilen veriler, tümör baskılayıcı miRNA'ların meme, akciğer, kolon, prostat, pankreas ve mide kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde aşağı regüle edildiğini gösterir [89-90]. Şimdiye kadar bildirilen ilk tümörle ilişkili miRNA'lar, *miR-15a* ve *miR-16-1* tümör baskılayıcı miR'ler kategorisine girer. Kromozom 13q14 bölgesinde bulunan miR kümesinin bir parçasıdır. Bu miR'lerin kaybı, Kronik Lenfositik Lösemisinin (KLL) yavaş formunun ilerlemesi ile bağlantılıdır [91]. Ayrıca, *miR-15a* ve *miR-16-1*'in kaybı, multipl miyelom ve prostat kanserinde de bildirilmiştir [92, 93]. *miR-15a/16-1*'in silinmesi hücre döngüsü ilerlemesini kontrol eden genlerin ekspresyonunu modüle ederek hem fare hem de insan B hücrelerinin çoğalmasını indükler [94]. *Let-7* miRNA ailesi ayrıca tümör baskılanmasında da rol oynar ve genleri çeşitli insan malignitelerinde sıklıkla silinir [90]. *miR-29* aile üyelerinin (*miR-29a*, *b*, *c*) aşağı regülasyonu aynı zamanda hepatoselüler karsinom, akciğer kanseri ve invaziv meme kanserinin gelişimi ve ilerlemesi ile bağlantılıdır [88, 89]. Kanser hücreleri çeşitli düzensiz sinyal yolları sergiler ve *miR-29*'un ekspresyonunun Wnt sinyal yolağı tarafından koordine edildiği ve bunun aşağı regülasyonunun onkojenik sinyal yollarının düzensizliği ile sonuçlanır [95, 96]. *miR-29*'un aşağı regülasyonu ayrıca daha agresif kanser formları ve/veya tümör nüksü ile bağlantılıdır, bu da terapötik restorasyonunun hastalık prognozunu iyileştirebileceğini düşündürür. Tümör oluşumunda kritik olduğu düşünülen diğer bir miRNA ailesi *miR-34*'tür (*miR-34a*, *b* ve *c*) [97]. *miR-34a*, p53 tümör baskılayıcı ağının bir parçası olarak kabul edilir ve *miR-34* düzensizliğinin kanser gelişiminde rol oynadığına inanılır [98, 99]. *miR34*'ün azalmış ekspresyonu yumurtalık, KLL, akciğer ve kolorektal kanserde de kaydedilmiştir [98, 100]. Zorlayıcı kanıtlar ayrıca, *miR-7* ve *miR-145*'in akciğer kanserinde tümör baskılayıcı miRNA'lar gibi davrandığını, buna karşın pankreas kanseri dokusunun önemli ölçüde düşük *miR-150* ve *miR-205* seviyelerini gösterir [101].

miRNA BAZLI TERAPÖTİK STRATEJİLER

miRNA'ların kanserde anormal ekspresyonu göz önüne alındığında, miRNA bazlı tedavi geliştirmeye yönelik basit yaklaşım olarak miRNA'ların tümör hücreleri içindeki fonksiyonlarını değiştirmek olacaktır. Bu nedenle, miRNA antagonistlerinin veya

miRNA mimikleri tümör hücrelerine eksojen olarak iletilmesini sağlamak için stratejiler geliştirmeye odaklanmıştır. miRNA antagonistleri, kanser dokularında aşırı ekspresyon gösteren endojen miRNA'ları inhibe etmek için kullanılırken, miRNA mimikleri miRNA fonksiyonu kaybını düzeltmek için kullanılır.

miRNA İnhibisyon ve Replasman Tedavisi

miRNA'ların terapötik uygulaması iki farklı strateji içerir. Birinci strateji, fonksiyon kazanımına yöneliktir ve anti-miR'ler, kilitli nükleik asitler (LNA) veya antagomiR'ler gibi miRNA antagonistlerini kullanarak onkojenik miRNA'ları inhibe etmeyi amaçlar. Bu miRNA antagonistleri, endojen miRNA'yı tamamlayıcı dizilere sahip oligonükleotitlerdir. Hedef miRNA için afiniteyi artıran kimyasal modifikasyonlar taşırlar ve endojen miRNA'yı RISC tarafından işlenmeyen bir konfigürasyonda yakalarlar veya alternatif olarak endojen miRNA'nın bozulmasına yol açarlar. Bazı miRNA'lara özgü küçük molekül inhibitörleri de miRNA fonksiyonunu inhibe etmek için geliştirilmektedir. İkinci strateji miRNA replasmanı, fonksiyon kaybını düzeltmek için bir tümör baskılayıcı miRNA mimiklerinin yeniden iletilmesini içerir. İnhibitör yaklaşım daha yaygın olarak kabul edilse ve kavramsal olarak küçük molekül inhibitörleri ve kısa enterferans yapan RNA'lar (siRNA) için de geçerli olan kuralları takip etsede, miRNA replasmanı tümör baskılayıcıların terapötik potansiyelini keşfetmek için yeni bir fırsattır [102-105]. Tümör dokularındaki tümör baskılayıcı seviyelerinin terapötik olarak eski haline getirilmesi geçmişte gen terapisi ile araştırılmıştır. Bununla birlikte, bu yaklaşımın pratik bir uygulaması hala uygulanmamıştır. Tümör baskılayıcıların tanımı protein kodlayan genlerle sınırlı olduğundan, gen tedavisi genellikle istenen proteini kodlayan nispeten büyük bir DNA plazmidi veya viral vektörün iletilmesini içerir. Genellikle vektör boyutu, hedef dokulara verimsiz iletimi ve nükleer lokalizasyon gerekliliği gibi konular bu yaklaşımı sistemik yerine lokal yönetimle sınırlayan teknik zorluklardır [105, 106-107]. Bu nedenle, kanser tedavisi için güçlü bir bilimsel gerekçeye rağmen, gen tedavisiyle ilişkili biçimsel engeller, tümör baskılayıcıların kullanılmasının tam terapötik faydasını yanıtsız bırakmaktadır. miRNA'lar yeni bir fırsat sunar, çünkü proteinlerin aksine miRNA mimikleri önemli ölçüde daha küçüktür, aktif olmaları için yalnızca hedef hücrelerin sitoplazmasına girmeleri gerekir ve siRNA'lar için de kullanılan modlar ve teknolojiler kullanılarak sistemik olarak iletilebilirler. miRNA inhibisyon tedavisi, onkojenik miRNA'ları hedeflemek için kullanılır. Yaygın olarak kullanılan bir yaklaşım, miRNA olgun zincirine tamamlayıcı olan antisens miRNA oligonükleotitleri (AMO'lar) olarak adlandırılan kimyasal olarak sentezlenmiş oligonükleotitleri kullanmaktır. Bir oncomiR olan *miR-21*, AMO tabanlı stratejiler kullanılarak hedeflenmiştir. Androjenden bağımsız prostat kanseri hücre dizilerinde AMO aracılı *miR-21* inhibisyonunun apoptoza karşı hücre duyarlılığını arttırdığı ve hücre hareketliliğini ve istilasını engeler [108]. Metillenmiş veya hidroksil grubu (2'-OMe) içeren AMO'lar, nükleaz bölünmesine karşı artan direnç ve miRNA'lara daha fazla bağlanma afinitesi taşır [109, 110]. miRNA'yı hedeflemek için sadece bir bağlanma bölgesine sahip olan AMO'ların dışında, miRNA süngerleri olarak adlandırılan olgun miRNA molekülüne başına çoklu bağlanma bölgeleri içeren farklı bir miRNA inhibitörleri sınıfı da geliştirilmiştir. miRNA süngerleri, hücrelerde transfeksiyondan sonra mRNA transkriptlerini ifade eden plazmit yapılarıdır (DNA dizileri). Süngerlerin transkriptleri, çoklu bağlanma bölgeleri aracılığıyla ilgili

hedef miRNA'ya bağlanır. *MiR-17-92* gen kümesinin süngerlerle inhibisyonu, kültürlenmiş B hücreli lenfoma hücrelerinde gösterilmiştir [111]. Diğer bir strateji, kilitli nükleik asit (LNA) antisens oligonükleotitlerinin geliştirilmesidir. LNA'lar, riboz halkasının 2'-O atomunu ve 4'-C atomunu birbirine bağlayan bir metilen köprüsü ile kilitlendiği bir nükleik asit analogları sınıfıdır [112, 113]. Başka bir yaklaşımda, miRNA maskeleri, mRNA'nın 3' UTR bölgesindeki miRISC bağlanma bölgelerini tamamlamak üzere tasarlanmıştır. Bu yaklaşım, zebra balıklarında *miR-430*'un baskılanmasını önlemede kullanılmıştır [114]. DNA ve RNA'ya benzer, peptid nükleik asitler (PNA'lar) olarak adlandırılan sentetik polimerler de antisens terapileri için mükemmel adaylar olarak geliştirilmiştir [115]. miRNA biyogenez yolağı, miRNA üretimini veya işlevini inhibe etmek için antisens oligonükleotitlerin (ASO'lar) hedefi olabilir [109]. Kültürlenen pankreas kanseri hücresinde ASO'ların aracılık ettiği *miR-221* susturma tümör hücresi proliferasyonunun azalmasını, apoptotik aktivitenin artmasını ve antikanser ajan benzil izotiyosiyanatın sitotoksitesinin artmasını desteklemiştir [116, 117]. miRNA replasman tedavisi, fonksiyon kayıplarını düzeltmek için tümör baskılayıcı miRNA mimiklerinin yeniden iletilmesine dayanır. miRNA mimikleri, kılavuz iplikten ve kılavuz ipliği tamamen veya kısmen tamamlayıcı olan bir yolcu (anti-kılavuz) iplikten oluşan RNA dupleksleridir. RNA dupleksinin kılavuz ipliği, endojen olgun miRNA'a ile aynı diziyeye sahiptir ve endojen miRNA'nın işlevini geri yüklemek için tasarlanmıştır. RNA dupleksinin kılavuz ipliği endojen olgun miRNA'nın ki ile aynı diziyeye sahiptir ve endojen miRNA'nın işlevini eski haline getirmek için tasarlanmıştır. Olgun endojen miRNA'ları tamamlayıcı tek sarmallı sentetik RNA molekülleri de fonksiyonlarını geri yükleyebilir. Bununla birlikte, çift sarmallı miRNA mimiklerinin gücü, tek sarmallı miRNA mimikleriyle karşılaştırıldığında 100-1000 kat daha yüksektir [105]. Bir çalışmada, *miR-99a* dubleks mimikleri kullanılarak *miR-99a*'nın restorasyonunun *in vitro* hepatoselüler karsinom hücrelerinin büyümesini engellemiştir. Ayrıca, *miR-99a* dubleks mimiklerinin intratumoral enjeksiyonu, hepatoselüler karsinom taşıyan çıplak farelerde tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir [108]. Benzer şekilde, *miR-150* mimikleri pankreas tümör hücrelerinin büyümesinin ve malign fenotipinin azalmasına yol açtığını ve hedef geni MUC4'ün ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [118]. Sentetik miRNA prekürsör mimikleri, miRNA replasman tedavisi için diğer seçeneklerdir. miRNA prekürsör mimikleri birkaç ek nükleotit veya tam uzunlukta pri-miRNA dizisine sahip olabilir [119].

NANOTEKNOLOJİ DESTEKLİ MİRNA DAĞITIMI

Son yıllarda, miRNA'ların sistemik iletimi ile ilgili engel ve kaygıların üstesinden gelmek için hedef hücrelere miRNA iletimini kolaylaştırmak için viral ve viral olmayan iletim sistemleri araştırılmıştır. Adenovirüsler, adeno-ilişkili virüsler (AAV) ve lentivirüsler gibi viral vektörlerin daha yüksek transdüksiyon verimliliğine sahiptir. Fakat, doğal immünojenisite ve potansiyel onkojenik transformasyonu tetikleme riski nedeniyle kullanımları sınırlandırılmıştır [120]. Bu durumda, viral olmayan, nanoteknoloji taşıma sistemleri hedeflenen taşıma için immünojenik olmama,

biyoyumluluk ve yüzey modifikasyon kolaylığı gibi çeşitli avantajlar taşıyan önemli alternatifler olarak ortaya çıkmıştır.

miRNA Dağıtımını için Lipid Bazlı Nano-Vektörler

Katyonik nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLT'ler, *ing.* NLC) pozitif yüklü lipid vezikülleridir. Proteinler, polipeptitler, oligonükleotitler, RNA ve DNA'lar dahil olmak üzere negatif yüklü maddeler için taşıyıcılar olarak kullanılabilirler. Çoğu katyonik NLT molekülü üç bölgeden oluşur: bir katyonik baş, bir hidrofobik hidrokarbon omurgası ve bir bağlayıcı bölgeden oluşur. Katyonik NLT'ler, elektrik yükü etkileşimlerinin sonucu olarak miRNA dağıtım verimliliğini iyileştirebilir. Örneğin, Chen ve diğerleri, katyonik NLT'lerin, murin B16F10 melanomunun deneysel akciğer metastazını tedavi etmek için *miR-34a* dağıtımını için başarıyla kullanmışlardır. Tedaviden sonra, tümör hücresi, *in vivo* olarak önemli ölçüde inhibe edilmiştir; bu, katyonik NLT'lerin miRNA'ların *in vivo* dağıtımını için potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, katyonik NLT'ler, *in vitro* ve *in vivo* baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom (HNSCC) tedavisinde *miR-107* dağıtımını için kullanılmıştır [121]. Lipozomlar, proteinler, peptitler ve nükleik asitler dahil hidrofobik moleküller kadar hidrofilik molekülleri de kapsülleme karakteristik özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılan dağıtım sistemlerinden biridir [122, 123]. Katyonik lipidler esas olarak lipozom aracılı nükleik asit iletimi için kullanılır. Nükleik asitler, katyonik lipidlerle kompleksler oluşturur ve böylece hidrofiliklikleri ve anyonik yüklerini dengeleyerek net pozitif yük ile sonuçlanır.

Lipoplex olarak bilinen kompleksler hücre yüzeyinde bulunan anyonik moleküller ile etkileşim yoluyla endositoza tabi tutulur [125]. miRNA'ların hedef tümör dokularına verimli bir şekilde dağıtımını için bir dizi katyonik lipozomal formülasyon geliştirilmiştir. Wu ve diğerleri, *pre-miR-133b* katyonik lipopleksleri *in vitro* transfeksiyon verimliliklerini ve *in vivo* biyolojik dağılımlarını, ticari olarak temin edilebilen transfeksiyon reaktifi siPORT NeoFX ile karşılaştırdılar. Lipoplexler, siPORT NeoFX'e kıyasla A549 hücrelerinde olgun *miR-133b* ekspresyonunda yaklaşık 2.3 kat artışla *pre-miR-133b* daha verimli bir şekilde iletilmiştir. Ayrıca, siPORT NeoFX transfeksiyon reaktifine kıyasla akciğer dokularında 50 kat daha yüksek *pre-miR-133b* katyonik lipopleks birikimi olduğunu kaydetmişlerdir [125]. Bir çalışmada, yağ dokusunu hedeflemek ve *miRNA-27a*'yı iletmek için katyonik lipid bazlı bir nanopartikül sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistemler, pozitif yüklü nanoyapılı lipid taşıyıcılar (cNLT'ler) ve negatif yüklü miRNA'lardan oluşturulmuştur. Bu bileşenler arasındaki elektrostatik etkileşimlere dayalı karmaşık oluşumla sonuçlanmıştır. DLS, ELS ve jel elektroforezi kullanılarak yapılan fizikokimyasal araştırmalar, cNLT *miRNA-27a*'nın kompleksler olarak kendiliğinden oluşan doğasını göstermiştir [126]. Başka bir çalışmada, katyonik lipozom formülasyonunun, tümör baskılayıcı *miR-29b*'yi küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHOAK, *ing.* NSCLC) hücrelerine verimli bir şekilde ileterek büyümelerine ve klonojenikliklerinde önemli azalmaya yol açmıştır [1]. Yakın tarihli bir çalışmada, karaciğere özgü *miR-122*'yi yakalayan katyonik lipozomlara oleik asidin (OA) eklenmesi hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullar altında transfeksiyon etkinliğini iyileştirmiştir [127]. Katyonik lipozomlar kullanılarak *miR-7* ekspresyon plazmitinin dağıtımını, geleneksel yöntemle kıyasla 30 kat daha yüksektir ve akciğer adenokarsinom ksenograft fare

modelinde tümör büyümesini önemli ölçüde bastırmıştır [128]. Diğer bir çalışmada, katyonik lipozom içinde kapsüllenmiş *miR-7*'nin sistemik uygulaması, glioma ksenograflarının büyümesini durdurmuş ve metastatik nodüllerin oluşumunu etkili bir şekilde azaltmıştır [129]. Tümör baskılayıcı *pre-miR-107*'nin katyonik lipoplekslerle iletimi baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomun (HNSCC) tümörijenitesini önemli ölçüde inhibe etmiştir [130]. *MiR-34a* ve paklitaksel (PTX) akciğer kanserinde tümörün nüksünü önlemek için katyonik katı lipid nanopartiküllerine yüklenmiştir. Bu dağıtım sistem, serumdaki bozulmadan *miR-34a* ve PTX'e önemli bir stabilite sağlamış ve B16F10 CD44⁺ taşıyan fare modelinin akciğerlerine metastaz yapan melanomun tedavisinde sinerjistik etki göstermiştir [131]. OncomiR'leri inhibe etmek için antisens miRNA oligonükleotitlerin (AMO'ların) dağıtımı için lipozomal formülasyonlar da geliştirilmiştir [132]. Shi ve arkadaşları, *anti-miR-21* yüklü katı lipid nanopartiküllerinin iletiminin akciğer kanser hücre büyümesini ve agresif fenotipik davranışlarını baskıladığını göstermiştir [133]. Başka bir çalışmada, 2'-OMe-4' tioribonükleozid ile modifiye edilmiş AMO'ların lipozomal aracılı sistemik dağıtımının, fare karaciğerinde *miR-122* aktivitesinin önemli ölçüde inhibisyonu ile sonuçlanmıştır [132]. Katyonik lipopleksler *in vitro* dağıtım sistemlerinde etkili olmasına rağmen, pozitif yüzey yüküne atfedilen toksisite ve immünojenisite nedeniyle *in vivo* ortamda uygulamaları sınırlıdır [120]. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için araştırmacıların denediği bir yaklaşım, miRNA'ları nötr lipozomal formülasyonlara kapsüllemesi ile bir miktar başarı elde etmiştir. *miR-34a*, intratumoral ve sistemik uygulamadan sonra akciğer tümörü ksenograft büyümesini inhibe eden nötr lipid nanopartiküller içinde kapsüllenmiştir [134]. Bir çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHOAK) üzerinde baskılayıcı etkiler sağlamak için *miR-34a* ve *let-7* miRNA'ların dağıtımı için nötr lipid emülsiyonu (NLE, MaxSuppressor *in vivo* RNAIancerII) kullanmıştır [135]. Alternatif bir yaklaşımda lipozomların yüzeyine polietilen glikol (PEG) polimerinin eklenmesi pozitif yüklü lipidler ve serum proteinleri arasındaki etkileşimi en aza indirerek immünojenisite sınırlamak için araştırılmıştır [136, 137]. PEGillenmiş lipozomal formülasyonlar kullanılarak miRNA'ların (*miR-34a* veya *miR-143/145*) restitüsyonu, pankreatik ksenograft ve ortotopik fare modelinde tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir [138]. Başka bir çalışmada, etkinliği artırmak ve hedef dışı etkileri azaltmak için hedeflenen miRNA iletim sistemleri geliştirilmiştir. Yine, *miR-34a*'nın sistemik dağıtımı için tek zincirli değişken parça (scFv) antikorunu (GC4) hedefleyen bir tümör ile etiketlenmiş lipozomal formülasyonlar geliştirilmiştir. B16f10 melanom akciğer metastazının murin modeline *miR-34a*'nın iletimi, survivin ekspresyonunu ve akciğerlerdeki tümör yükünü önemli ölçüde azaltmıştır [121]. Liu ve arkadaşları *anti-miR-296*'nın insan göbek damarı endotel hücrelerine (HUVEC) dağıtımı için siklik RGD (arginin-glisinaspirtik asit, integrin bağlayıcı tripeptid) ile modifiye edilmiş lipozomal formülasyonları kullanmışlardır [139]. Kanser hücrelerinde bulunan glukokortikoid, EphA2 (ephrin tip-A reseptörü 2), transferrin ve asialoglikoprotein reseptörleri de sırasıyla *miR-Hsp90*, *miR-let-7a*, *miR-29b* ve *miR-155*'in hedefli dağıtımı için kullanılmıştır [140-143]. Costa ve arkadaşları *anti-miR-21*'in glioma hücrelerine hedefli olarak dağıtımı için yüzeylerinde bir peptid klorotoksin (CTX) bulunan stabil nükleik asit lipid partiküllerini (SNALP'ler) geliştirmişlerdir. CTX-bağlı SNALP aracılı *miR-21* susturma kompleksi tümör baskılayıcı PTEN ve PDCD4 seviyelerini ve kaspaz

aktivitesini artırarak tümör hücre proliferasyonunun azalmasına neden olmuştur [143]. Başka bir çalışmada lipozomun yüzeyi miRNA stabilitesinin ve etkinliğinin iyileştirilmesi için endolizozomal kaçıışı artırmak üzere, bir dietil fosfatetraetilenpentamin bazlı polikatyon lipozomal formülasyonu (TEPA-PCL) geliştirilerek uygun hale getirilmiştir. *miR-92a/TEPA-PCL* kompleksi endo-lizozomal bozulmadan kaçmayı başarmış ve *miR-92a* hedef genlerin ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır [144]. *miR-34* mimiklerinin *in vivo* iletimi için miRNA terapötikleri biyofarmasötik şirket tarafından lipozom bazlı bir MRX34 formülasyonu geliştirmiştir [145]. Klinik öncesi çalışmalar, *miR-34* mimiklerin sistemik lipozomal dağıtımı ile *miR-34*'ün hedef onkogenlerinin ekspresyonunda ve önceden var olan hepatoselüler karsinom, lenfoma, akciğer ve prostat kanseri büyümesinde önemli inhibisyon etkisi olduğunu göstermiştir [134, 135, 139, 145].

miRNA DAĞITIMI İÇİN POLİMER BAZLI TAŞIYICI SİSTEMLER

Polimerik sistemler, sistemik uygulamadan sonra biyolojik sıvılardaki stabiliteleri nedeniyle lipozomlara göre benzersiz avantajlara sahiptir. Ayrıca, polimer bazlı dağıtım sistemleri, hazırlama yöntemlerinin basitliği ve daha ucuz hammadde nedeniyle endüstriyel ölçekte büyütme için uygundur. Önemli sentetik polimerler arasında polietilenimin (PEI), poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA), poli(amido amin) (PAMAM) ve polkaproleton (PCL) başlıca polimerlerdir. Doğal polimerler ise proteinler, peptit ve polisakaritlerdir. MiRNA dağıtımı için en yaygın olarak kullanılan polimerik sistemlerden bazıları aşağıda açıklanmıştır.

miRNA Dağıtımı için Sentetik Polimer Bazlı Nanoformülasyonlar

1. miRNA Dağıtımı için Polietilenimin (PEI) Bazlı Nanotaşıyıcılar

PEI basit, ucuz ve gen aktarımı için en kapsamlı şekilde araştırılan polimerlerden biridir. PEI'deki pozitif yüklü amin grupları ile nükleik asitlerdeki negatif yüklü fosfat gruplarının etkileşime girmesiyle hücresel alımı artıran, hafif, net pozitif yüzey yüküne sahip polipleks adı verilen yoğun kompleksler oluşur. Hücrelerin içine girdikten sonra, polipleksler endozomun pH'ını tamponlayarak endo-lizozomal bozulmadan kaçır ve nihayetinde oligonükleotitleri sitoplazmaya bırakır [146]. miRNA iletimi için PEI kullanımını gösteren az sayıda çalışma vardır [147-150]. *miR-145* ve *miR-33a* mimikleri kolon karsinomu fare ksenograft modelinde önemli anti-tümör etkileri ile sonuçlanan PEI-miRNA kompleksleri kullanılarak sistemik olarak iletilmiştir [148]. Poliüretan kısa dallı polietilenimin (PU-PEI) aracılı *miR145* dağıtımı, ksenograft fare modelinde akciğer tümör büyümesini azaltmıştır [145]. Ayrıca, *PU-PEI-miR145*, sisplatin ve radyasyon tedavisi ile birlikte metastatik nodül oluşumunu ortadan kaldırmıştır. Başka bir çalışmada, *PU-PEI-miRNA145* poliplekslerinin ortotopik kanser kök hücre kaynaklı glioblastoma tümörlerine intrakraniyal iletimi, kemorezistansı ve tümör oluşumunu önemli ölçüde azaltmıştır [150]. Polietilen glikol-polietilenimin (PEG-PEI) nanopartikülleri, kronik miyeloid lösemide aşağı regüle edilen *miR-150*'nin dağıtımı için kullanılmıştır [147]. Geleneksel dağıtım sistem engellerini aşmak için miRNA'ların kan beyin bariyeri boyunca taşınması için PEI tabanlı dağıtım sistemleri değiştirilmiştir. Hwang ve arkadaşları, nöron reseptörüne özgü kuduz virüsü glikoproteini (RVG) peptidine bağlı

PEI (RVGPEI) polimer sistemini kullanarak beyinde *miR-124a*'nın daha yüksek seviyelere çıkarmışlardır [145].

2. *miRNA Dağıtımı için Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) Nanopartikülleri*

PLGA, biyobozunur ve biyouyumlu özelliklerinden dolayı diğer polimerlere göre daha çok tercih edilir. PLGA bazlı nanopartiküller (PLGA-NP'ler) *miR-26a*'ı insan hepatoselüler karsinoma hücrelerinde (HePG2) başarılı bir şekilde iletmıştır. *MiR-26a-NP*, PEI/nükleik asit polipleksleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek transfeksiyon verimliliği ve daha düşük sitotoksositeye sahiptir [151]. *miR-150*'i pankreas kanserinde yeni tümör baskılayıcı miRNA olarak tanımlanmıştır [118]. *miR-150*'nin verimli bir şekilde dağıtımı için, *miR150* mimiklerini verimli bir şekilde kapsülleyen ve sürekli salım profili gösteren *miR-150*'nin PLGA tabanlı nano dağıtım sistemi başarıyla geliştirilmiştir [42]. Ayrıca, pankreas kanseri hücrelerinin PLGA tabanlı *miR-150* nano dağıtım sistemi ile tedavisi doğrudan hedef MUC4'ü aşağı regüle ederek büyümelerini, klonojenikliğini, hareketliliğini ve istilasını bastırmıştır. *miR-155*, birkaç lenfomada aşırı eksprese edilir ve hücre bölünmesi ve immüno-regülasyon ile ilgili birkaç kanser yolağının düzenlenmesinde rol oynar. *Anti-miR-155*'in hücreye nüfuz eden peptit (penetratin) ile kaplanmış PLGA nanopartikülleri aracılığıyla hedeflenen dağıtımı fare lenfoma modelinde hücre çoğalmasını ve tümör büyümesini önemli ölçüde azaltmıştır [152].

3. *miRNA Dağıtımı için Diğer Polimer Bazlı Nanopartiküller*

Oligonükleotidlerin taşınmasında kullanılan diğer önemli polimer sınıfı dendrimerlerdir. Dendrimerler, kapsülleme veya konjugasyon yoluyla yüksek ilaç yüklenme kapasiteleri nedeniyle avantajlı polimerlerdir. PAMAM dendrimerleri kullanılarak insan beyni glioma hücrelerine (U251) *miR-7*'nin iletimi *in vivo* ve *in vitro* olarak daha yüksek transfeksiyon verimliliği ve gelişmiş terapötik etkiler göstermiştir [153]. PAMAM dendrimerleri kullanılarak *anti-miR-21*'in birlikte dağıtımı 5-FU'nun sitotoksitesini önemli ölçüde iyileştirmiş, göçü azaltmış ve U251 glioblastoma hücrelerinin apoptozunu arttırmıştır [154]. Ek olarak, aynı grup PAMAM dendrimerleri kullanılarak insan glioblastoma hücrelerine U251 (PTEN-mutant) ve LN229'a (PTEN-vahşi tip) *anti-miR-21* dağıtımının taksole karşı kemosenesitiviteyi arttırdığı bildirilmiştir [155]. *miR-126*, poliarginin ve RGD (arginin-glisin-aspartik asit) ile modifiye edilmiş dendrimerler yoluyla insan umbilikal ven endotel (HUVEC) hücrelerine iletildiğinde, çoğalmalarını ve tüp oluşumunu önemli ölçüde azaltmıştır [156].

Polikaprolakton, biyouyumluluğu nedeniyle FDA tarafından da onaylanmış biyolojik olarak parçalanabilen bir polyester polimerdir. *miR-200c* ve docetaxel'in polikaprolakton kullanılarak birlikte dağıtımı hem kanser kök hücrelerinin hem de kanser olmayan kök hücrelerin inhibisyonu yoluyla tümör büyümesini *in vitro* ve *in vivo* olarak sinerjistik olarak azaltmıştır. *miR-200c* NP'leri, intravenöz uygulamadan sonra mide kanseri ksenograftlarında yüksek düzeyde birikim ve uzun süreli tutma elde edebilmiştir [153]. Mittal ve arkadaşları, ilerlemiş pankreas kanseri tedavisi için tümör baskılayıcı *miRNA-205*'in birlikte dağıtımı için kendi kendine birleşen gemitabin-konjuge miseller tasarlamışlardır. Kombinasyon formülasyonları, gemitabine dirençli MIAPaCa-2 ve CAPAN-1 hücrelerinde kemorezistans, istila ve göçü verimli bir şekilde tersine

çevirmiştir. Kombinasyon formülasyonu ayrıca pankreas kanseri tümör modelinde önemli büyüme inhibisyonu göstermiştir [101].

4. miRNA dağıtımı için Doğal Polimer Bazlı Nanoformülasyonlar

Atelokollajen, kitosan ve protamin gibi doğal polimerler de miRNA dağıtımı için nanoformülasyonlar geliştirmek için kullanılmıştır. Atelokollajen, verimli dağıtımı için negatif yüklü nükleik asitlerle kompleks oluşturan pozitif yüklü bir polimerdir. Atelokollajen ilk olarak *miR-34a*'nın insan kolon kanseri hücrelerine yani HCT116 ve RKO'ya iletimi için kullanıldı ve bunların büyüme inhibisyonuna ve yaşlanmanın indüklenmesine neden olmuştur. Ayrıca, insan kolon kanseri fareleri ksenograftına *miR-34a/atelokollajen* polipleksinin intratumoral enjeksiyonları, tümörlerin büyümesini *in vivo* olarak başarılı bir şekilde bastırmıştır [66]. Ayrıca, *antimiR-135b/atelokollajen* polipleksinin insan lenfoma fareleri ksenograftına lokal olarak dağıtımı tümör büyümesinin azalmasıyla birlikte tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir [82]. *MiR16/atelokollajen* polipleksinin intravenöz enjeksiyonunun *miR-16*'yı etkili bir şekilde iletmış ve ksenograft fare modelinin kemik dokularında prostat tümör büyümesini inhibe etmiştir [157]. Ek olarak, *miR-143*'ün atelokollajen ile fare modeline sistemik uygulanması, osteosarkomun spontan akciğer metastazını baskılamıştır [158]. Başka bir metastaz baskılayıcı miRNA, *miR-516-3p*'nin de ortotopik tümör fare modeline atelokollajen ile kompleks olarak uygulandığında insan scirrhus mide kanserinin peritoneal metastazını inhibe etmede etkili olduğu kanıtlanmıştır [159]. Son zamanlarda, etkinliği artırmak ve hedef dışı etkileri azaltmak için miRNA'ların hedeflenen dağıtımı için atelokollajen -miRNA kompleksleri kullanılmıştır. miRNA'ların (*miR-15a* ve *miR-16-1*) atelokollajen aracılı hedefli iletimi kemik dokusuna verilen hasarı azaltmak ve terapötik etkiyi iyileştirmek için prostata özgü membran antijenine (PSMA) karşı bir ligand olarak RNA aptameri (A10 3.2) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PSMA'ya karşı hedeflenen bu aptamer konjuge *atelokollajen-miR-15a/-miR-16-1* nanoformülasyonları, yüksek transfeksiyon veriminin yanı sıra antikanser etkinliğine sahiptir ve kemik metastatik odaklarında prostat kanseri hücrelerini seçici olarak öldürmüştür [160].

Diğer bir polimer olan protamin küçük, arginin açısından zengin, FDA onaylı ve klinik olarak kullanılan doğal polimerdir ve miRNA'ların dağıtımı için de kullanılmıştır. *miRNA-203*, protamin sülfat (PS)-nanodiamond (ND) nanopartikülleri kullanılarak özofagus kanser hücrelerine başarıyla uygulanmış ve kanser hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü önemli ölçüde bastırmıştır [161]. Hyaluronik asit (HA)/protamin sülfat (PS) komplekslerine (HP-IPEC'ler) dayalı nanokapsüller, *miR-34a*'yı üçlü negatif meme kanseri hücrelerine veya dokularına dağıtımı için de kullanılmıştır. *miR-34a*'nın nanokapsül destekli iletimi, CD44 ve Notch-1 sinyal yollarını hedefleyerek meme kanseri hücrelerinin apoptozunun artmasını ve göçün, proliferasyonun ve tümör büyümesinin azalmasına neden olmuştur [129]. Bir çalışmada, *miR-34a*, doksorubisin (DOX) ile hyaluronik asit (HA)-kitosan (CS) nanopartikülleri birlikte kapsüllenmiş ve ilacın iyileştirilmiş terapötik etkileri için meme kanseri hücrelerine dağıtılmıştır [162].

5. miRNA Dağıtımı için İnorganik Bazlı Nanopartikül Formülasyonu/

Son zamanlarda nanopartiküller (NP'ler), miRNA'ların tümör hedefli iletimi için çekici bir seçenek olarak ortaya çıkmıştır. Silika, altın ve poliamidoamin (PAMAM) dendrimerleri gibi inorganik malzemeler i nanopartikül formülasyonu kullanılmıştır. Nano boyutlu dağıtım araçları üretmek için sentetik olarak üretilmiştir. İdeal nanopartikül dağıtım aracı güvenli ve iyi tolere edilebilir olmalı, düşük hedef dışı etkilere sahip tümör hedefleme yeteneklerine sahip olmalı ve kanser hücreleri tarafından kolayca alınmalı ve yüksek seviyelerde tümör baskılayıcı miRNA sağlamalıdır. Boyut, yük ve kimyasal bileşim gibi nanopartikülün fiziksel özellikleri bu özelliklerin oluşumunu sağlar [84]. Nanopartiküller, benzersiz boyutları ve şekle bağlı optik özellikleri nedeniyle kanserin önlenmesi ve tedavisinde oldukça önemlidir [172]. Temel olarak altın, demir oksit ve silika nanopartikülleri kanser teşhisi ve tedavisi için taşıyıcı araçlar olarak geliştirilmiştir, çoğu durumda miRNA iletimi için altın ve demir oksit nanopartikülleri kullanılmıştır. Hao ve arkadaşları, sentetik miRNA'larla işlevselleştirilmiş altın NP'lerin miRNA'ları prostat kanseri hücrelerine iletebildiğini göstermiştir [173, 174]. Tümör baskılayıcı *miR-205* ile konjuge edilmiş altın nanopartiküllerin, hedef proteininin ekspresyonunu baskıladığını ve prostat kanser hücrelerinin çoğalma ve göçünü inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada, onkogenik miRNA, *miR20a* mimikleriyle işlevselleştirilen altın nanopartiküller, hücre büyümesini desteklemiştir [174, 71]. Silika NP'ler ayrıca kolon kanserine kombine olarak hem *miR-204-5p* hem de oksaliplatin (OXL) iletmek için kullanılmıştır [150]. *miR-204-5p*, kolon kanserinde aşağı regüle edilir ve RAB22A, HOXA10 ve Bcl-2 dahil olmak üzere kanserde düzensiz olan birçok geni hedefler. OXL, kolon kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin bazlı bir kemoterapi ajanıdır [176]. Bu nanopartiküller, hyaluronik asit (HA) ile konjuge edilmiş polietilenimin (PEI) bazlı mezogözenekli silikalardır (MSN). OXL, MSN gözeneklerine yüklenirken *miR-204-5p*, PEI yolağıyla yüklenmiştir. HA, kolon kanseri hücrelerinde CD44'e bağlanarak tümör hedefli dağıtımını sağlamıştır. Yüklenen NP'ler OXsi-HMSN olarak adlandırılmıştır. *miR-204-5p* veya OXL, kapsülleme olmadan dağıtıldığında veya *in vivo* ayrı ayrı kapsüllendiğinde, hiçbir tedavinin tümör büyümesi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı kaydedilmiştir. Bununla birlikte, OXmi-HMSN, *ex vivo* olarak doğrulanan apoptoz indüksiyonu ile önemli bir büyüme inhibisyonuna neden olmuştur [84]. Kim ve arkadaşları, *anti-miR-29b*'yi serviks kanseri hücreleri (HeLa), yumurtalık granüloza hücreleri (KGN) ve insan embriyonik böbrek hücreleri (293T) dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerine AuNP'leri kullanarak başarıyla iletmıştır, böylece miRNA için AuNP'lerinin çok yönlülüğünü ortaya koymuştur [80]. *miR-130b* ve *anti-miR130b* miRNA'ların çoklu miyelom hücre hattı modeline (MM 1S) verimli bir şekilde dağıtımını, AuNP'ler ile de sağlanmıştır [177]. Gosh ve diğerleri (2013) *miR-31* (tümör süpresör) ve *miR-1323*'ün (onkogen) iki farklı kanser hücre hattı (yumurtalık kanseri (HEYA8 ve OVCAR8) ve nöroblastom (NGP ve SH-SY5Y)) modeline dağıtımını için sistemin işlevli AuNP'ler geliştirmişlerdir. miRNA'lar, AuNP'ler ve polietilen glikol oranını optimize etmişler ve miR:AuNP:PEG (1:10:0.5)'in yaklaşık 5 günlük yarılanma ömrü, yüksek hücre alım (%96), minimum toksisite ile en iyi formülasyon olduğunu bulmuşlardır (yaklaşık %2) ve verimli endozomal kaçış sağlamıştır [178, 71]. Normal dokuda, tümör baskılayıcı *miR-100*, mTOR'u hedefleyerek p53 ve kaspaz-3 hücre apoptotik sinyallemesinin yukarı regülasyonunu kolaylaştırır [179]. İlginç bir şekilde temozolomid (TMZ), aynı apoptotik yolağı aktive ederek çalışır. Alternatif olarak *miR-21*,

glioblastoma multiforme (GBM)'de aşırı ifade edilen güçlü bir oncomiR'dir. *MiR-21*'in kanserde aşırı ekspresyonu, apoptotik sinyali kesintiye uğratar ve fosfataz ve tensin homologunun (PTEN) ve programlanmış hücre ölümü proteini 4'ün (PDCD4) doğrudan aşağı regülasyonu yoluyla ilaç duyarlılığını azaltmıştır [180].

HÜCRE DIŞI VEZİKÜLLER (HDV'LER) ARACILIĞIYLA miRNA İLETİMİ

Hücre dışı veziküller (HDV'ler, *ing.* EVs), tüm hücreler tarafından salınan doğal olarak oluşan nanopartiküllerdir ve hücreler arasında kapsüllenmiş proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri taşıyarak hücre iletişimde önemli bir rol oynar [181]. "Ekstraselüler vezikül" terimi, eksozomlar (30-120 nm), mikroveziküller (100-1000 nm) ve apoptotik cisimler (>1000 nm) dahil olmak üzere boyut ve biyogenez yolağı bakımından farklılık gösteren çeşitli vezikül tiplerini kapsar [182]. HDV kargo, menşei hücrenin karakteristiğidir. miRNA'lar doğal olarak kapsülendir ve HDV'ler tarafından taşınır; sonuç olarak, HDV'ler, tümör bölgesine tümör süpresör miRNA'yı tanıtmak için dağıtım araçları olarak kullanım için ortaya çıkan heyecan verici bir rakiptir [84]. Mezenkimal kök hücreler (MKH'ler, *ing.* MSCs), kemik, yağ ve kıkırdak dahil olmak üzere birden fazla doku tipine farklılaşma yeteneği nedeniyle doku onarımı ve rejenerasyonunda önemli bir rol oynayan multipotent hücrelerdir [163, 84]. Hem tümör hedefleme hem de bağışıklıktan kurtulma yeteneklerine sahip olduklarından, MKH'ler kanser tedavisi için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, MKH'ler esas olarak rejeneratif hücreler olduğundan ve bol miktarda büyüme faktörü ve kemokin salgıladığından, MKH'lerin bazı senaryolarda pro-tümörjenik olabileceğine dair endişelerde vardır [164]. HDV'leri salgılayan hücrenin bir parmak izini temsil ettiğine inanıldığından, MKH'ler tarafından salınan HDV'ler potansiyel olarak aynı tümör hedefleme ve bağışıklıktan kaçınma yeteneklerine sahip olabilir [165, 166]. miRNA'ların HDV'lere doğal olarak paketlenmesinden dolayı,, araştırmacılar, MKH-HDV'leri, tümör baskılayıcı miRNA'lar (*miR-146b*, *miR-185* veya *miR-379*'u) ile zenginleştirerek lokal veya sistemik uygulamalar için tasarlamışlardır [84]. *miR-146b*, tümör nekroz faktör reseptörü (TNFR) ile ilişkili faktör 6 (TRAF6), matriks metalloproteinaz-16 (MMP16) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) dahil olmak üzere birçok beyin malignitesinde bilinen bir tümör baskılayıcıdır [167-169]. Birçok glioma hastasında, *miR-146b* aktivitesi kaybolur ve bu da tümörün invazivliğinin artmasına neden olur. *miR-146*'yı veya bir kontrol aracını eksprese eden MKH-HDV'ler, sıçanlarda 9L gliosarkomlara bir IT enjeksiyonu yoluyla uygulanmıştır [169]. On gün sonra, kontrol hayvanlarına kıyasla tedavi edilenlerde tümör hacminde önemli bir azalma olmuştur. HDV'ler, kan-beyin bariyerini geçebilmeleri ve potansiyel olarak beyin malignitesi veya ikincil beyin metastazlarının tedavisi için heyecan verici bir yol sağlaması nedeniyle sistemik enjeksiyon için önemli olduğunu kaydetmişlerdir [170]. *miR-185*, AKT yolağını düzenleyerek ağız kanserinde bir tümör baskılayıcı görevi görür. Ayrıca, oral skuamöz hücreli kanser (OSCC) hasta örneklerinde düşük ekspresyona sahiptir. Oral potansiyel olarak malign bozukluklar (OMPD), OSCC'nin öncüsüdür. *miR-185* ile zenginleştirilmiş MKH-HDV'lerin etkinliği, kimyasal olarak indüklenen bir OMPD modelinde, OMPD bölgesine (sol yanak) haftada üç kez topikal olarak uygulanarak test edilmiştir [171]. Bukkal mukozanın *ex vivo* analizi, tedavi edilen

hayvanların enflamatuvar hücre infiltrasyonunda, proinflamatuvar sitokinlerde ve kemokinlerde ve aktive B hücrelerinin (NF-kB) fosforile edilmiş Akt ve nükleer faktör kappa-hafif zincir arttırıcı seviyelerinde bir azalma olduğunu göstermiş ve her ikisi de apoptozu destekleyen bölünmüş kaspaz -9 ve -3'ün artan ekspresyonu gözlenmiştir. *MKH-HDV-miR-185* tedavisi iltihabı durdurmuş ve sonuç olarak OSCC vakalarının sayısını azaltmıştır [84].

SONUÇ

Son 30 yılda kodlamayan RNA'ların keşfinden beri miRNA'nın kapsamı ve önemi katlanarak artmıştır. Son on yılda ise miRNA bilim insanlarının güçlü bir araştırma odağı olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda, miRNA'nın biyolojisi geniş çapta araştırılmış ve miRNA'nın regülasyonu/deregülasyonu ve tıpta biyolojik hedefleri hakkındaki sayısız makaleler yayınlanmıştır. Bu bilgiler ışığında özellikle, yüzyılımızın en önemli sağlık problemi olan kanser üzerine çalışmalar yapılmıştır. Özellikle tümör süpresör miRNA'ların nanoteknoloji kullanımıyla kanseri önlemesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Tüm bu bilgiler ışığında, tümör baskılayıcı miRNA'ların tümör bölgesine nanopartiküller ile dağıtımının kanser tedavisinde oldukça yeni ve çekici bir seçenek olarak ortaya çıkmıştır.

Teşekkür

Emeklerinden dolayı babam Murat Özkan'a (Y. DAĞLIOĞLU'nun babası) teşekkür ederim. Nurlar içinde uyu baba.

KAYNAKLAR

- [1] Garzon, R., Calin, G. A., Croce, C. M. (2009): MicroRNAs in cancer. Annual Review of Medicine, 60: 167-179. doi: 10.1146/annurev.med.59.053006.104707
- [2] Bruce, J. P., Hui, A. B., Shi, W., Perez-Ordenez, B., Weinreb, I., Xu, W., Haibe-Kains, B., Waggott, D.M., Boutros, P.C., O'Sullivan, B., Waldron, J., Huang, S.H., Chen, E.X., Gilbert, C., Liu, F. F. (2015): Identification of a microRNA signature associated with risk of distant metastasis in nasopharyngeal carcinoma. Oncotarget, 6(6): 4537. doi: 10.18632/oncotarget.3005
- [3] Esquela-Kerscher, A., Slack, F. J. (2006): Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nature Reviews Cancer, 6(4): 259-269. doi: 10.1038/nrc1840
- [4] Jeansonne, D., DeLuca, M., Marrero, L., Lassak, A., Pacifici, M., Wyczechowska, D., Wilk, A., Reiss, K., Peruzzi, F. (2015): Anti-tumoral effects of miR-3189-3p in glioblastoma. Journal of Biological Chemistry, 290(13): 8067-8080. doi: 10.1074/jbc.M114.633081
- [5] Pinatel, E. M., Orso, F., Penna, E., Cimino, D., Elia, A. R., Circosta, P., Dentelli, P., Brizzi, M.F., Provero, P., Taverna, D. (2014): miR-223 is a coordinator of breast cancer progression as revealed by bioinformatics predictions. PLoS One, 9(1): e84859. doi: 10.1371/journal.pone.0084859
- [6] Ben-Hamo, R., Efroni, S. (2015): MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype. Oncotarget, 6(3): 1594. doi: 10.18632/oncotarget.2734
- [7] Sotiropoulou, G., Pampalakis, G., Lianidou, E., Mourelatos, Z. (2009): Emerging roles of microRNAs as molecular switches in the integrated circuit of the cancer cell. Rna, 15(8): 1443-1461. doi:10.1261/rna.1534709

- [8] Lewis, B. P., Burge, C. B., Bartel, D. P. (2005): Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *cell*, 120(1): 15-20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035
- [9] Xie, X., Lu, J., Kulbokas, E. J., Golub, T. R., Mootha, V., Lindblad-Toh, K., Lander, E.S., Kellis, M. (2005): Systematic discovery of regulatory motifs in human promoters and 3' UTRs by comparison of several mammals. *Nature*, 434(7031): 338-345. doi: 10.1038/nature03441
- [10] Ambros, V., Chen, X. (2007): The regulation of genes and genomes by small RNAs. *Development*, 134(9): 1635–1641. doi.org/10.1242/dev.002006
- [11] Carrington, J. C., Ambros, V. (2003): Role of microRNAs in plant and animal development. *Science*, 301(5631): 336-338. doi: 10.1126/science.1085242
- [12] Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Aldler, H., Rattan, S., Keating, M., Rai, K., Rassenti, L., Kipps, T., Negrini, M., Bullrich F., Croce, C. M. (2002): Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24): 15524-15529. doi: 10.1073/pnas.242606799
- [13] Lawrie, C. H., Gal, S., Dunlop, H. M., Pushkaran, B., Liggins, A. P., Pulford, K., Banham, A. H., Pezzella, F., Boultonwood, J., Wainscoat J.S, Hatton, C.S., Harris, A. L. (2008): Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*, 141(5): 672-675. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x
- [14] Zhang, B., Farwell, M. A. (2008): microRNAs: a new emerging class of players for disease diagnostics and gene therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12(1): 3-21. doi:10.1111/j.1582-4934.2007.00196.x
- [15] Lee, R. C., Feinbaum, R. L., Ambros, V. (1993): The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5): 843-854. doi:10.1016/0092-8674(93)90529-Y
- [16] Chalfie, M., Horvitz, H. R., Sulston, J. E. (1981): Mutations that lead to reiterations in the cell lineages of *C. elegans*. *Cell*, 24(1): 59-69. doi: 10.1016/0092-8674(81)90501-8
- [17] Wightman, B., Ha, I., Ruvkun, G. (1993): Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75(5): 855-862. doi: 10.1016/0092-8674(93)90530-4
- [18] Reinhart, B. J., Slack, F. J., Basson, M., Pasquinelli, A. E., Bettinger, J. C., Rougvie, A. E., Horvitz, H.R., Ruvkun, G. (2000): The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403(6772): 901-906. doi: 10.1038/35002607
- [19] Lau, N. C., Lim, L. P., Weinstein, E. G., Bartel, D. P. (2001): An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294(5543): 858-862. doi: 10.1126/science.1065062
- [20] Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., Tuschl, T. (2001): Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294(5543): 853-858. doi: 10.1126/science.1064921
- [21] Griffiths-Jones, S. (2004): The microRNA registry. *Nucleic acids research*, 32(suppl_1): D109-D111. doi: 10.1093/nar/gkh023
- [22] Griffiths-Jones, S., Grocock, R. J., Van Dongen, S., Bateman, A., Enright, A. J. (2006): miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Research*, 34(suppl_1): D140-D144. doi: 10.1093/nar/gkj112
- [23] Denli, A. M., Tops, B. B., Plasterk, R. H., Ketting, R. F., Hannon, G. J. (2004): Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, 432(7014): 231-235. doi: 10.1038/nature03049
- [24] Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Rådmark, O., Kim, S., Kim, V. N. (2003): The nuclear RNase III *Drosha* initiates microRNA processing. *Nature*, 425(6956): 415-419. doi: 10.1038/nature01957

- [25] Bohnsack, M. T., Czaplinski, K., Görlich, D. (2004): Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 10(2): 185-191. doi:10.1261/rna.5167604
- [26] Bartel, D. P. (2004): MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2): 281-297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5
- [27] Ørom, U. A., Nielsen, F. C., Lund, A. H. (2008): MicroRNA-10a binds the 5' UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Molecular Cell*, 30(4): 460-471. doi: 10.1016/j.molcel.2008.05.001
- [28] Qin, W., Shi, Y., Zhao, B., Yao, C., Jin, L., Ma, J., Jin, Y. (2010): miR-24 regulates apoptosis by targeting the open reading frame (ORF) region of FAF1 in cancer cells. *PloS one*, 5(2): e9429. 10.1371/journal.pone.0009429
- [29] Reddy, K. B. (2015): MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell International*, 15(1): doi: 1-6. 10.1186/s12935-015-0185-1
- [30] Cummins, J. M., Velculescu, V. E. (2006): Implications of micro-RNA profiling for cancer diagnosis. *Oncogene*, 25(46): 6220-6227. doi:10.1038/sj.onc.1209914
- [31] Iorio, M. V., Ferracin, M., Liu, C. G., Veronese, A., Spizzo, R., Sabbioni, S., Magri, E., Pedriali, M., Fabbri, M., Campiglio, M., Ménard, S., Palazzo, J.P., Rosenberg, A., Musiani, P., Volinia, S., Nenci, I., Calin, G.A., Querzoli, P., Negrini, M., Croce, C. M. (2005): MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Research*, 65(16): 7065-7070. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-1783
- [32] Takamizawa, J., Konishi, H., Yanagisawa, K., Tomida, S., Osada, H., Endoh, H., Harano, T., Yatabe, Y., Nagino, M., Nimura, Y., Mitsudomi, T., Takahashi, T. (2004): Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Research*, 64(11): 3753-3756. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-0637
- [33] Johnson, S. M., Grosshans, H., Shingara, J., Byrom, M., Jarvis, R., Cheng, A., Labourier, E., Reinert, K.L., Brown, D., Slack, F. J. (2005). RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 120(5), 635-647. doi:10.1016/j.cell.2005.01.014
- [34] Lee, Y. S., Dutta, A. (2007): The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes & development*, 21(9): 1025-1030. doi:10.1101/gad.1540407
- [35] Brueckner, B., Stresemann, C., Kuner, R., Mund, C., Musch, T., Meister, M., Sülthmann, H., Lyko, F. (2007): The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Research*, 67(4): 1419-1423. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4074
- [36] Fedele, M., Battista, S., Manfioletti, G., Croce, C. M., Giancotti, V., Fusco, A. (2001): Role of the high mobility group A proteins in human lipomas. *Carcinogenesis*, 22(10): 1583-1591. doi: 10.1093/carcin/22.10.1583
- [37] Stenman, G. (2005, June). Fusion oncogenes and tumor type specificity—insights from salivary gland tumors. In *Seminars in Cancer Biology* 15(3): 224-235. doi: 10.1016/j.semcancer.2005.01.002
- [38] Fedele, M., Battista, S., Kenyon, L., Baldassarre, G., Fidanza, V., Klein-Szanto, A. J., Parlow, A. F., Visone, R., Pierantoni, G. M., Outwater, E., Santoro, M., Croce, C. M., Fusco, A. (2002): Overexpression of the HMGA2 gene in transgenic mice leads to the onset of pituitary adenomas. *Oncogene*, 21(20): 3190-3198.
- [39] Mayr, C., Hemann, M. T., Bartel, D. P. (2007): Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation. *Science*, 315(5818): 1576-1579. doi:10.1126/science.1137999
- [40] Tsang, J. S., Ebert, M. S., van Oudenaarden, A. (2010): Genome-wide dissection of microRNA functions and cotargeting networks using gene set signatures. *Molecular Cell*, 38(1): 140-153. doi: 10.1016/j.molcel.2010.03.007
- [41] Iorio, M. V., Croce, C. M. (2012): MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO molecular medicine*, 4(3): 143-159. doi: 10.1002/emmm.201100209

- [42] Izumchenko, E., Chang, X., Michailidi, C., Kagohara, L., Ravi, R., Paz, K., Brait, M., Hoque, M.O., Ling, S., Bedi, A., Sidransky, D. (2014): The TGF β -miR200-MIG6 pathway orchestrates the EMT-associated kinase switch that induces resistance to EGFR inhibitors. *Cancer research*, 74(14): 3995-4005. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0110
- [43] Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B. L., Mak, R. H., Ferrando, A. A., Downing, J. R., Jacks, V., Horvitz, H. R., Golub, T. R. (2005): MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435(7043): 834-838. doi: 10.1038/nature03702
- [44] Lagana, A., Russo, F., Sismeiro, C., Giugno, R., Pulvirenti, A., Ferro, A. (2010): Variability in the incidence of miRNAs and genes in fragile sites and the role of repeats and CpG islands in the distribution of genetic material. *PloS one*, 5(6): e11166. doi:10.1371/journal.pone.0011166
- [45] Lamy, P., Andersen, C. L., Dyrskjöt, L., Tørring, N., Ørntoft, T., Wiuf, C. (2006): Are microRNAs located in genomic regions associated with cancer? *British journal of Cancer*, 95(10): 1415-1418. doi: 10.1038/sj.bjc.6603381
- [46] Wynendaele, J., Böhnke, A., Leucci, E., Nielsen, S. J., Lambertz, I., Hammer, S., Sbrzesny, N., Kubitza, D., Wolf, A., Gradhand, E., Balschun, K., Braicu, I., Sehouli, J., Darb-Esfahani, S., Denkert, C., Thomssen, C., Hauptmann, S., Lund, A., Marine, J-C., Bartel, F. (2010): An illegitimate microRNA target site within the 3' UTR of MDM4 affects ovarian cancer progression and chemosensitivity. *Cancer Research*, 70(23): 9641-9649. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0527
- [47] Mishra, P. J., Mishra, P. J., Banerjee, D., Bertino, J. R. (2008): MiRSNPs or MiR-polymorphisms, new players in microRNA mediated regulation of the cell: Introducing microRNA pharmacogenomics. *Cell Cycle*, 7(7): 853-858. doi: 10.4161/cc.7.7.5666
- [48] Chin, L. J., Ratner, E., Leng, S., Zhai, R., Nallur, S., Babar, I., Muller, R., Straka, E., Su, L., Burki, E. A., Crowell, R.E., Patel, R., Kulkarni, T., Homer, R., Zelterman, D., Kidd, K. K., Zhu, Y., Christiani, D. C., Belinsky, S. A., Slack, F.J., Weidhaas, J. B. (2008): A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk. *Cancer Research*, 68(20): 8535-8540. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2129
- [49] Lehmann, U., Hasemeier, B., Christgen, M., Müller, M., Römermann, D., Länger, F., Kreipe, H. (2008): Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa-mir-9-1 in human breast cancer. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 214(1): 17-24. doi: doi.org/10.1002/path.2251
- [50] Saito, Y., Liang, G., Egger, G., Friedman, J. M., Chuang, J. C., Coetzee, G. A., Jones, P. A. (2006): Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell*, 9(6): 435-443. doi: 10.1016/j.ccr.2006.04.020
- [51] Han, L., Witmer, P. D. W., Casey, E., Valle, D., Sukumar, S. (2007): DNA methylation regulates MicroRNA expression. *Cancer Biology & Therapy*, 6(8): 1290-1294. doi: 10.4161/cbt.6.8.4486
- [52] Lujambio, A., Calin, G. A., Villanueva, A., Ropero, S., Sánchez-Céspedes, M., Blanco, D., Montuenga, L. M., Rossi, S., Nicoloso, M. S., Faller, W. J., Gallagher, W. M., Eccles, S.A., Croce, C.M., Esteller, M. (2008): A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(36): 13556-13561. doi: 10.1073/pnas.0803055105
- [53] Bandres, E., Agirre, X., Bitarte, N., Ramirez, N., Zarate, R., Roman-Gomez, J., Prosper, F., Garcia-Foncillas, J. (2009): Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, 125(11): 2737-2743. doi: 10.1002/ijc.24638
- [54] Neves, R., Scheel, C., Weinhold, S., Honisch, E., Iwaniuk, K. M., Trompeter, H. I., Niederacher, D., Wernet, P., Santourlidis, S., Uhrberg, M. (2010): Role of DNA

- methylation in miR-200c/141 cluster silencing in invasive breast cancer cells. *BMC Research Notes*, 3(1): 1-7. doi:10.1186/1756-0500-3-219
- [55] Scott, G. K., Mattie, M. D., Berger, C. E., Benz, S. C., Benz, C. C. (2006). Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Research*, 66(3): 1277-1281. 10.1158/0008-5472.CAN-05-3632
- [56] Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S., Kim, V. N. (2002): MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *The EMBO Journal*, 21(17): 4663-4670. doi: 10.1093/emboj/cdf476
- [57] Ozsolak, F., Poling, L. L., Wang, Z., Liu, H., Liu, X. S., Roeder, R. G., Zhang, X., Song, J. S., Fisher, D. E. (2008): Chromatin structure analyses identify miRNA promoters. *Genes & Development*, 22(22): 3172-3183.
- [58] Rügger, S., Großhans, H. (2012): MicroRNA turnover: when, how, and why. *Trends in Biochemical Sciences*, 37(10): 436-446. doi: 10.1016/j.tibs.2012.07.002
- [59] Upton, J. P., Wang, L., Han, D., Wang, E. S., Huskey, N. E., Lim, L., Truitt, M., Mcmanus, M. T., Ruggero, D., Goga, A., Papa, F., Oakes, S. A. (2012). IRE1 α cleaves select microRNAs during ER stress to derepress translation of proapoptotic Caspase-2. *Science*, 338(6108): 818-822. doi: 10.1126/science.1226191
- [60] Chang, T. C., Yu, D., Lee, Y. S., Wentzel, E. A., Arking, D. E., West, K. M., Dang, C. V., Tikhonenko, A., Mendell, J. T. (2008): Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nature Genetics*, 40(1): 43-50. 10.1038/ng.2007.30
- [61] Dews, M., Homayouni, A., Yu, D., Murphy, D., Sevignani, C., Wentzel, E., Furth, E. E., Lee, W. M., Enders, G. H., Mendell, J. T., Thomas-Tikhonenko, A. (2006): Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nature Genetics*, 38(9): 1060-1065. 10.1038/ng1855
- [62] Bui, T. V., Mendell, J. T. (2010): Myc: maestro of microRNAs. *Genes & Cancer*, 1(6): 568-575. doi: 10.1177/1947601910377491
- [63] Kent, O. A., Chivukula, R. R., Mullendore, M., Wentzel, E. A., Feldmann, G., Lee, K. H., Liu, S., Leach, S. D., Maitra, A., Mendell, J. T. (2010): Repression of the miR-143/145 cluster by oncogenic Ras initiates a tumor-promoting feed-forward pathway. *Genes & Development*, 24(24): 2754-2759. doi:10.1101/gad.1950610
- [64] Hermeking, H. (2012): MicroRNAs in the p53 network: micromanagement of tumour suppression. *Nature Reviews Cancer*, 12(9): 613-626. doi: 10.1038/nrc3318
- [65] Jansson, M. D., Lund, A. H. (2012): MicroRNA and cancer. *Molecular Oncology*, 6(6): 590-610. 10.1016/j.molonc.2012.09.006
- [66] Tazawa, H., Tsuchiya, N., Izumiya, M., Nakagama, H. (2007): Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(39): 15472-15477. doi: 10.1073/pnas.0707351104
- [67] Harris, L., Fritsche, H., Mennel, R., Norton, L., Ravdin, P., Taube, S., Somerfield, M. R., Hayes, D. F., Bast Jr, R. C. (2007): American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 25(33): 5287-5312. doi: 10.1200/JCO.2007.14.2364
- [68] Negrini, M., Ferracin, M., Sabbioni, S., Croce, C. M. (2007): MicroRNAs in human cancer: from research to therapy. *Journal of cell science*, 120(11): 1833-1840. doi:10.1242/jcs.03450
- [69] Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., Shimizu, M., Rattan, S., Bullrich, F., Negrini, M., Croce, C. M. (2004): Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(9): 2999-3004. doi: 10.1073/pnas.0307323101
- [70] Weber, B., Stresmann, C., Brueckner, B., Lyko, F. (2007): Methylation of human microRNA genes in normal and neoplastic cells. *Cell Cycle*, 6(9): 1001-1005. doi: 10.4161/cc.6.9.4209

- [71] Tyagi, A., Vishnoi, K., Mahata, S., Verma, G., Srivastava, Y., Masaldan, S., Roy, B.G., Bharti, A. C., Das, B. C. (2016): Cervical cancer stem cells selectively overexpress HPV oncoprotein E6 that controls stemness and self-renewal through upregulation of HES1. *Clinical Cancer Research*, 22(16), 4170-4184. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2574
- [72] Selcuklu, S. D., Donoghue, M. T., Spillane, C. (2009): miR-21 as a key regulator of oncogenic processes. *Biochemical Society Transactions*, 37(4): 918-925. doi: 10.1042/BST0370918
- [73] Mendell, J. T. (2008): miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell*, 133(2): 217-222. doi:10.1016/j.cell.2008.04.001
- [74] Ma, L., Reinhardt, F., Pan, E., Soutschek, J., Bhat, B., Marcusson, E. G., Teruya-Feldstein, J., Bell, G. W., Weinberg, R. A. (2010): Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model. *Nature Biotechnology*, 28(4): 341-347.
- [75] Guessous, F., Alvarado-Velez, M., Marcinkiewicz, L., Zhang, Y., Kim, J., Heister, S., Kefas, B., Godlewski, J., Schiff, D., Purow, B., Abounader, R. (2013): Oncogenic effects of miR-10b in glioblastoma stem cells. *Journal of Neuro-Oncology*, 112(2): 153-163. doi: 10.1007/s11060-013-1047-0
- [76] Costinean, S., Zanesi, N., Pekarsky, Y., Tili, E., Volinia, S., Heerema, N., Croce, C. M. (2006): Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E μ -miR155 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(18): 7024-7029. doi: 10.1073/pnas.0602266103
- [77] Eis, P. S., Tam, W., Sun, L., Chadburn, A., Li, Z., Gomez, M. F., Lund, E., Dahlberg, J. E. (2005): Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(10): 3627-3632. doi: 10.1073/pnas.0500613102
- [78] Faraoni, I., Antonetti, F. R., Cardone, J., Bonmassar, E. (2009). miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1792(6): 497-505. doi: 10.1016/j.bbadis.2009.02.013
- [79] Jiang, S., Zhang, H. W., Lu, M. H., He, X. H., Li, Y., Gu, H., Liu, M., Wang, E. D. (2010): MicroRNA-155 functions as an OncomiR in breast cancer by targeting the suppressor of cytokine signaling 1 gene. *Cancer Research*, 70(8): 3119-3127. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4250
- [80] Kim, J. H., Yeom, J. H., Ko, J. J., Han, M. S., Lee, K., Na, S. Y., Bae, J. (2011): Effective delivery of anti-miRNA DNA oligonucleotides by functionalized gold nanoparticles. *Journal of Biotechnology*, 155(3), 287-292. doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.07.014
- [81] Kim, J. K., Choi, K. J., Lee, M., Jo, M. H., Kim, S. (2012): Molecular imaging of a cancer-targeting theragnostics probe using a nucleolin aptamer-and microRNA-221 molecular beacon-conjugated nanoparticle. *Biomaterials*, 33(1): 207-217. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.09.023
- [82] Matsuyama, H., Suzuki, H. I., Nishimori, H., Noguchi, M., Yao, T., Komatsu, N., Mano, H., Sugimoto, K., Miyazono, K. (2011): miR-135b mediates NPM-ALK-driven oncogenicity and renders IL-17-producing immunophenotype to anaplastic large cell lymphoma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 118(26): 6881-6892. doi: 10.1182/blood-2011-05-354654
- [83] Chiu, S. C., Chung, H. Y., Cho, D. Y., Chan, T. M., Liu, M. C., Huang, H. M., Li, T. Y., Lin, J. Y., Chou, P. C., Fu, R. H., Yang, W., Harn, H., Lin, S. Z. (2014): Therapeutic potential of microRNA let-7: tumor suppression or impeding normal stemness. *Cell Transplantation*, 23(4-5): 459-469. doi: doi.org/10.3727/096368914X678418
- [84] O'Neill, C. P., Dwyer, R. M. (2020): Nanoparticle-based delivery of tumor suppressor microRNA for cancer therapy. *Cells*, 9(2): 521. doi: 10.3390/cells9020521

- [85] MacFarlane, L. A., R Murphy, P. (2010): MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Current Genomics*, 11(7), 537-561. doi: 10.2174/138920210793175895
- [86] Bail, S., Swerdel, M., Liu, H., Jiao, X., Goff, L. A., Hart, R. P., Kiledjian, M. (2010): Differential regulation of microRNA stability. *Rna*, 16(5): 1032-1039. doi:10.1261/rna.1851510
- [87] Croce, C. M. (2009): Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 10(10): 704-714. doi: 10.1038/nrg2634
- [88] Xiong, Y., Fang, J. H., Yun, J. P., Yang, J., Zhang, Y., Jia, W. H., Zhuang, S. M. (2010): Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 51(3): 836-845. doi: 10.1002/hep.23380
- [89] Rostas, J. W., Pruitt, H. C., Metge, B. J., Mitra, A., Bailey, S. K., Bae, S., Singh, K. P., Devine, D. J., Dyess, D. L., Richards, W. O., Tucker, J. A., Shevde, L. A., Samant, R. S. (2014): microRNA-29 negatively regulates EMT regulator N-myc interactor in breast cancer. *Molecular Cancer*, 13(1): 1-11. doi: 10.1186/1476-4598-13-200
- [90] Akao, Y., Nakagawa, Y., Naoe, T. (2006): let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(5): 903-906. doi: 10.1248/bpb.29.903
- [91] Calin, G. A., Cimmino, A., Fabbri, M., Ferracin, M., Wojcik, S. E., Shimizu, M., Taccioli, C., Zanesi, N. R., Garzon, Aqeilan, R. I., Alder, H. S., Volinia, S., Rassenti, L., Liu, X., Liu, C. G., Kipps, T. J., Negrini, M., Croce, C. M. (2008): MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(13): 5166-5171. doi: 10.1073/pnas.0800121105
- [92] Ambs, S., Prueitt, R. L., Yi, M., Hudson, R. S., Howe, T. M., Petrocca, F., Wallace, T. A., Liu, C. G., Volinia, S., Calin, G. A., Yfantis, H. G., Stephens, R. M., Croce, C. M. (2008): Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer. *Cancer Research*, 68(15): 6162-6170. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0144
- [93] Roccaro, A. M., Sacco, A., Thompson, B., Leleu, X., Azab, A. K., Azab, F., Runnels, J., Jia, X., Ngo, H. T., Melhem, M. R., Lin, C. P., Ribatti, D., Rollins, B. J., Witzig, T. E., Anderson, K. C., Ghobrial, I. M. (2009): MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 113(26): 6669-6680. doi: 10.1182/blood-2009-01-198408
- [94] Klein, U., Lia, M., Crespo, M., Siegel, R., Shen, Q., Mo, T., Ambesi-Impiombato, A., Califano, A., Migliazza, A., Bhagat, G., Dalla-Favera, R. (2010): The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell*, 17(1): 28-40. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.019
- [95] Bhardwaj, A., Srivastava, S. K., Singh, S., Arora, S., Tyagi, N., Andrews, J., McClellan, S., Carter, J.E., Singh, A. P. (2014): CXCL12/CXCR4 signaling counteracts docetaxel-induced microtubule stabilization via p21-activated kinase 4-dependent activation of LIM domain kinase 1. *Oncotarget*, 5(22), 11490. doi: 10.18632/oncotarget.2571
- [96] Deshmukh, S. K., Srivastava, S. K., Bhardwaj, A., Singh, A. P., Tyagi, N., Marimuthu, S., Dyess, D. L., Dal, V. Z., Carter, J. E., Singh, S. (2015): Resistin and interleukin-6 exhibit racially-disparate expression in breast cancer patients, display molecular association and promote growth and aggressiveness of tumor cells through STAT3 activation. *Oncotarget*, 6(13): 11231. doi: 10.18632/oncotarget.3591
- [97] Zhao, J. J., Lin, J., Lwin, T., Yang, H., Guo, J., Kong, W., Dessureault, S., Moscinski, L. C., Reznia, D., Dalton, W. S., Sotomayor, E., Tao, J., Cheng, J. Q. (2010): microRNA expression profile and identification of miR-29 as a prognostic marker and pathogenetic factor by targeting CDK6 in mantle cell lymphoma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 115(13): 2630-2639. doi: 10.1182/blood-2009-09-243147
- [98] Vogt, M., Munding, J., Grüner, M., Liffers, S. T., Verdoodt, B., Hauk, J., Steinstraesser, L., Tannapfel, A., Hermeking, H. (2011). Frequent concomitant inactivation of miR-34a and miR-34b/c by CpG methylation in colorectal, pancreatic, mammary, ovarian,

- urothelial, and renal cell carcinomas and soft tissue sarcomas. *Virchows Archiv*, 458(3), 313-322. doi: 10.1007/s00428-010-1030-5
- [99] Fabbri, M., Bottoni, A., Shimizu, M., Spizzo, R., Nicoloso, M. S., Rossi, S., Croce, C. M. (2011): Association of a microRNA/TP53 feedback circuitry with pathogenesis and outcome of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Jama*, 305(1), 59-67. doi:10.1001/jama.2010.1919
- [100] Corney, D. C., Hwang, C. I., Matoso, A., Vogt, M., Flesken-Nikitin, A., Godwin, A. K., Kamat, A. A., Sood, A. K., Ellenson, L. H., Nikitin, A. Y. (2010): Frequent downregulation of miR-34 family in human ovarian cancers. *Clinical Cancer Research*, 16(4): 1119-1128. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2642
- [101] Mittal, A., Chitkara, D., Behrman, S. W., Mahato, R. I. (2014): Efficacy of gemcitabine conjugated and miRNA-205 complexed micelles for treatment of advanced pancreatic cancer. *Biomaterials*, 35(25): 7077-7087. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.053
- [102] Johnson, C. D., Esquela-Kerscher, A., Stefani, G., Byrom, M., Kelnar, K., Ovcharenko, D., Wilson, M., Wang, X., Shelton, J., Shingara, J., Chin, L., Brown, D., Slack, F. J. (2007): The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Research*, 67(16): 7713-7722. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1083
- [103] Esquela-Kerscher, A., Trang, P., Wiggins, J. F., Patrawala, L., Cheng, A., Ford, L., Weidhaas, J. B., Brown, D., Bader, A. G., Slack, F. J. (2008): The let-7 microRNA reduces tumor growth in mouse models of lung cancer. *Cell cycle*, 7(6): 759-764. doi: 10.4161/cc.7.6.5834
- [104] Trang, P., Medina, P. P., Wiggins, J. F., Ruffino, L., Kelnar, K., Omotola, M., Homer, R., Brown, D., Bader, A. G., Weidhaas, J. B., Slack, F. J. (2010): Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA. *Oncogene*, 29(11): 1580-1587. doi: 10.1038/onc.2009.445
- [105] Bader, A. G., Brown, D., Stoudemire, J., Lammers, P. (2011): Developing therapeutic microRNAs for cancer. *Gene therapy*, 18(12): 1121-1126. doi: 10.1038/gt.2011.79
- [106] McCormick, F. (2001): Cancer gene therapy: fringe or cutting edge? *Nature Reviews Cancer*, 1(2): 130-141. doi:10.1038/35101008
- [107] Roth, J. A. (2006): Adenovirus p53 gene therapy. *Expert opinion on biological therapy*, 6(1): 55-61. doi: 10.1517/14712598.6.1.55
- [108] Li, T., Li, D., Sha, J., Sun, P., Huang, Y. (2009): MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 383(3): 280-285. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.03.077
- [109] Esau, C. C. (2008): Inhibition of microRNA with antisense oligonucleotides. *Methods*, 44(1): 55-60. doi: 10.1016/j.ymeth.2007.11.001
- [110] Hutvagner, G., Simard, M. J., Mello, C. C., Zamore, P. D., Joyce, G. (2004): Sequence-specific inhibition of small RNA function. *PLoS Biology*, 2(4): e98. doi: 10.1371/journal.pbio.0020098
- [111] Karthik, L., Kumar, G., Keswani, T., Bhattacharyya, A., Chandar, S. S., Bhaskara Rao, K. V. (2014): Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PloS one*, 9(3): e90972. doi: 10.1371/journal.pone.0029275
- [112] Ørom, U. A., Kauppinen, S., Lund, A. H. (2006): LNA-modified oligonucleotides mediate specific inhibition of microRNA function. *Gene*, 372: 137-141. doi:10.1016/j.gene.2005.12.031
- [113] Kloosterman, W. P., Wienholds, E., de Bruijn, E., Kauppinen, S., Plasterk, R. H. (2006): In situ detection of miRNAs in animal embryos using LNA-modified oligonucleotide probes. *Nature Methods*, 3(1): 27-29. doi: 10.1038/nmeth843
- [114] Choi, W. Y., Giraldez, A. J., Schier, A. F. (2007): Target protectors reveal dampening and balancing of Nodal agonist and antagonist by miR-430. *Science*, 318(5848): 271-274. doi: 10.1126/science.1147535

- [115] Nielsen, P. E., Egholm, M., Berg, R. H., Buchardt, O. (1991): Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Science*, 254(5037): 1497-1500. doi: 10.1126/science.1962210
- [116] Egawa, S., Toma, H., Ohigashi, H., Okusaka, T., Nakao, A., Hatori, T., Hiroyuki, M., Akio, Y., Tanaka, M. (2012): Japan pancreatic cancer registry; 30th year anniversary: Japan pancreas society. *Pancreas*, 41(7): 985-992. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ba82e1
- [117] Basu, A., Alder, H., Khiyami, A., Leahy, P., Croce, C. M., Haldar, S. (2011): MicroRNA-375 and microRNA-221: potential noncoding RNAs associated with antiproliferative activity of benzyl isothiocyanate in pancreatic cancer. *Genes & Cancer*, 2(2): 108-119. doi: 10.1177/1947601911409212
- [118] Srivastava, S. K., Bhardwaj, A., Singh, S., Arora, S., Wang, B., Grizzle, W. E., Singh, A. P. (2011): MicroRNA-150 directly targets MUC4 and suppresses growth and malignant behavior of pancreatic cancer cells. *Carcinogenesis*, 32(12): 1832-1839. doi: 10.1093/carcin/bgr223
- [119] Terasawa, K., Shimizu, K., Tsujimoto, G. (2011): Synthetic pre-miRNA-based shRNA as potent RNAi triggers. *Journal of nucleic acids*, 2011. doi: 10.4061/2011/131579
- [120] Pereira, D. M., Rodrigues, P. M., Borralho, P. M., Rodrigues, C. M. (2013): Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics. *Drug Discovery Today*, 18(5-6): 282-289. doi: 10.1016/j.drudis.2012.10.002
- [121] Chen, Y., Zhu, X., Zhang, X., Liu, B., Huang, L. (2010): Nanoparticles modified with tumor-targeting scFv deliver siRNA and miRNA for cancer therapy. *Molecular Therapy*, 18(9): 1650-1656. doi: 10.1038/mt.2010.136
- [122] Mallick, S., Choi, J. S. (2014): Liposomes: versatile and biocompatible nanovesicles for efficient biomolecules delivery. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(1): 755-765. doi: 10.1166/jnn.2014.9080
- [123] Tyagi, N., Ghosh, P. C. (2011): Folate receptor mediated targeted delivery of ricin entrapped into sterically stabilized liposomes to human epidermoid carcinoma (KB) cells: effect of monensin intercalated into folate-tagged liposomes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43(4): 343-353. doi: 10.1016/j.ejps.2011.05.010
- [124] Anderson, D. M., Hall, L. L., Ayyalapu, A. R., Irlon, V. R., Nantz, M. H., Hecker, J. G. (2003): Stability of mRNA/cationic lipid lipoplexes in human and rat cerebrospinal fluid: methods and evidence for nonviral mRNA gene delivery to the central nervous system. *Human Gene Therapy*, 14(3): 191-202. doi: 10.1089/10430340360535751
- [125] Wu, Y., Crawford, M., Yu, B., Mao, Y., Nana-Sinkam, S. P., Lee, L. J. (2011): MicroRNA delivery by cationic lipoplexes for lung cancer therapy. *Molecular Pharmaceutics*, 8(4): 1381-1389. doi: 10.1021/mp2002076
- [126] Tucak, A., Sirbubalo, M., Hadžiabdić, J., Rahić, O., Ruseska, I., Zimmer, A., Vranić, E. (2020): Nanostructured lipid carriers as drug delivery systems for miRNA. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 66 (Suppl 1): 235 – 236. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2020.66.03.117
- [127] Wang, X., Yu, B., Ren, W., Mo, X., Zhou, C., He, H., Lee, L. J. (2013): Enhanced hepatic delivery of siRNA and microRNA using oleic acid based lipid nanoparticle formulations. *Journal of Controlled Release*, 172(3): 690-698. doi: 10.1016/j.jconrel.2013.09.027
- [128] Rai, K., Takigawa, N., Ito, S., Kashihara, H., Ichihara, E., Yasuda, T., Shimizu, K., Tanimoto, M., Kiura, K. (2011): Liposomal delivery of microRNA-7-expressing plasmid overcomes epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-resistance in lung cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 10(9): 1720-1727. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0220
- [129] Wang, S., Cao, M., Deng, X., Xiao, X., Yin, Z., Hu, Q., Zeng, Y. (2015): Degradable Hyaluronic Acid/Protamine Sulfate Interpolyelectrolyte Complexes as miRNA-Delivery

- Nanocapsules for Triple-Negative Breast Cancer Therapy. *Advanced Healthcare Materials*, 4(2): 281-290. doi: 10.1002/adhm.201400222
- [130] Piao, L., Zhang, M., Datta, J., Xie, X., Su, T., Li, H., Teknos, T. N., Pan, Q. (2012): Lipid-based nanoparticle delivery of Pre-miR-107 inhibits the tumorigenicity of head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Therapy*, 20(6): 1261-1269. doi: 10.1038/mt.2012.67
- [131] Shi, S. J., Zhong, Z. R., Liu, J., Zhang, Z. R., Sun, X., Gong, T. (2012): Solid lipid nanoparticles loaded with anti-microRNA oligonucleotides (AMOs) for suppression of microRNA-21 functions in human lung cancer cells. *Pharmaceutical Research*, 29(1): 97-109. doi: 10.1007/s11095-011-0514-6
- [132] Takahashi, M., Yamada, N., Hatakeyama, H., Murata, M., Sato, Y., Minakawa, N., Harashima, H., Matsuda, A. (2013): In vitro optimization of 2'-OMe-4'-thioribonucleoside-modified anti-microRNA oligonucleotides and its targeting delivery to mouse liver using a liposomal nanoparticle. *Nucleic Acids Research*, 41(22): 10659-10667. doi.org/10.1093/nar/gkt823
- [133] Spector, P. E., Fox, S., Penney, L. M., Bruursema, K., Goh, A., Kessler, S. (2006): The dimensionality of counterproductivity: Are all counterproductive behaviors created equal?. *Journal of Vocational Behavior*, 68(3): 446-460. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.09.005
- [134] Wiggins, J. F., Ruffino, L., Kelnar, K., Omotola, M., Patrawala, L., Brown, D., Bader, A. G. (2010): Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Research*, 70(14): 5923-5930. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0655
- [135] Trang, P., Wiggins, J. F., Daige, C. L., Cho, C., Omotola, M., Brown, D., Weidhaas, J. B., Bader, A. G., Slack, F. J. (2011): Systemic delivery of tumor suppressor microRNA mimics using a neutral lipid emulsion inhibits lung tumors in mice. *Molecular Therapy*, 19(6), 1116-1122. doi: 10.1038/mt.2011.48
- [136] Tyagi, N., Rathore, S. S., Ghosh, P. C. (2011): Enhanced killing of human epidermoid carcinoma (KB) cells by treatment with ricin encapsulated into sterically stabilized liposomes in combination with monensin. *Drug Delivery*, 18(6): 394-404. doi: 10.3109/10717544.2011.567309
- [137] Miller, C. R., Bondurant, B., McLean, S. D., McGovern, K. A., O'Brien, D. F. (1998): Liposome-cell interactions in vitro: effect of liposome surface charge on the binding and endocytosis of conventional and sterically stabilized liposomes. *Biochemistry*, 37(37): 12875-12883. doi: 10.1021/bi980096y
- [138] Pramanik, D., Campbell, N. R., Karikari, C., Chivukula, R., Kent, O. A., Mendell, J. T., Maitra, A. (2011): Restitution of tumor suppressor microRNAs using a systemic nanovector inhibits pancreatic cancer growth in mice. *Molecular Cancer Therapeutics*, 10(8): 1470-1480. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0152
- [139] Liu, C., Kelnar, K., Liu, B., Chen, X., Calhoun-Davis, T., Li, H., Patrawala, L., Yan, H., Jeter, C., Honorio, S., Wiggins, J. F., Bader, A. G., Fagin, R., Brown, D., Tang, D. G. (2011): The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. *Nature Medicine*, 17(2): 211-215. doi:10.1038/nm.2284
- [140] Pore, S. K., Choudhary, A., Rathore, B., Ganguly, A., Sujitha, P., Kumar, C. G., Agawane, S. B., Kumar, J. M., Scaria, V., Pillai, B., Banerjee, R. (2013): Hsp90-targeted miRNA-liposomal formulation for systemic antitumor effect. *Biomaterials*, 34(28): 6804-6817. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.05.054
- [141] Lee, H. Y., Mohammed, K. A., Kaye, F., Sharma, P., Moudgil, B. M., Clapp, W. L., Nasreen, N. (2013): Targeted delivery of let-7a microRNA encapsulated ephrin-A1 conjugated liposomal nanoparticles inhibit tumor growth in lung cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 8: 4481. doi: 10.2147/IJN.S41782
- [142] Zhang, M., Zhou, X., Wang, B., Yung, B. C., Lee, L. J., Ghoshal, K., Lee, R. J. (2013): Lactosylated gramicidin-based lipid nanoparticles (Lac-GLN) for targeted delivery of

- anti-miR-155 to hepatocellular carcinoma. *Journal of Controlled Release*, 168(3): 251-261. doi: 10.1016/j.jconrel.2013.03.020
- [143] Costa, P. M., Cardoso, A. L., Mendonça, L. S., Serani, A., Custódia, C., Conceição, M., Simoes, S., Moreira, J. N., Pereira de, A. L., De Lima, M. C. P. (2013): Tumor-targeted chlorotoxin-coupled nanoparticles for nucleic acid delivery to glioblastoma cells: a promising system for glioblastoma treatment. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2, e100. doi: 10.1038/mtna.2013.30
- [144] Ando, H., Okamoto, A., Yokota, M., Shimizu, K., Asai, T., Dewa, T., Oku, N. (2013): Development of a miR-92a delivery system for anti-angiogenesis-based cancer therapy. *The Journal of Gene Medicine*, 15(1): 20-27. doi: 10.1002/jgm.2690
- [145] Bader, A. G. (2012): miR-34—a microRNA replacement therapy is headed to the clinic. *Frontiers in Genetics*, 3: 120. doi: 10.3389/fgene.2012.00120
- [146] Boussif, O., Lezoualc'h, F., Zanta, M. A., Mergny, M. D., Scherman, D., Demeneix, B., Behr, J. P. (1995): A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(16): 7297-7301. doi: 10.1073/pnas.92.16.7297
- [147] Biray Avcı, Ç., Özcan, İ., Balcı, T., Özer, Ö., Gündüz, C. (2013): Design of polyethylene glycol–polyethylenimine nanocomplexes as non-viral carriers: mir-150 delivery to chronic myeloid leukemia cells. *Cell Biology International*, 37(11): 1205-1214. doi: 10.1002/cbin.10157
- [148] Ibrahim, A. F., Weirauch, U., Thomas, M., Grünweller, A., Hartmann, R. K., Aigner, A. (2011): MicroRNA replacement therapy for miR-145 and miR-33a is efficacious in a model of colon carcinoma. *Cancer Research*, 71(15): 5214-5224. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4645
- [149] Son, S., Jang, J., Youn, H., Lee, S., Lee, D., Lee, Y. S., Jeong, J.M., Kim, W. J., Lee, D. S. (2011): A brain-targeted rabies virus glycoprotein-disulfide linked PEI nanocarrier for delivery of neurogenic microRNA. *Biomaterials*, 32(21): 4968-4975. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.047
- [150] Yang, Y. P., Chien, Y., Chiou, G. Y., Cherng, J. Y., Wang, M. L., Lo, W. L., Chang, P. I., Huang, Y. W., Chen, Y. H., Shih, M. T., Chen, Y., Chiou, S. H. (2012): Inhibition of cancer stem cell-like properties and reduced chemoradioresistance of glioblastoma using microRNA145 with cationic polyurethane-short branch PEI. *Biomaterials*, 33(5): 1462-1476. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.071
- [151] Liang, G. F., Zhu, Y. L., Sun, B., Hu, F. H., Tian, T., Li, S. C., Xiao, Z. D. (2011): PLGA-based gene delivering nanoparticle enhance suppression effect of miRNA in HePG2 cells. *Nanoscale Research Letters*, 6(1): 1-9. doi:10.1186/1556-276X-6-447
- [152] Babar, I. A., Cheng, C. J., Booth, C. J., Liang, X., Weidhaas, J. B., Saltzman, W. M., Slack, F. J. (2012): Nanoparticle-based therapy in an in vivo microRNA-155 (miR-155)-dependent mouse model of lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(26): E1695-E1704. doi: 10.1073/pnas.1201516109
- [153] Liu, Q., Li, R. T., Qian, H. Q., Wei, J., Xie, L., Shen, J., Yang, M., Qian, X. P., Yu, L. X., Jiang, X.Q. Liu, B. R. (2013): Targeted delivery of miR-200c/DOC to inhibit cancer stem cells and cancer cells by the gelatinases-stimuli nanoparticles. *Biomaterials*, 34(29): 7191-7203. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.06.004
- [154] Ren, Y., Kang, C. S., Yuan, X. B., Zhou, X., Xu, P., Han, L., Wang, G. X., Jia, Z., Zhong, Y., Yu, S., Sheng, J., Pu, P. Y. (2010): Co-delivery of as-miR-21 and 5-FU by poly (amidoamine) dendrimer attenuates human glioma cell growth in vitro. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 21(3): 303-314. doi: 10.1163/156856209X415828
- [155] Ren, Y., Zhou, X., Mei, M., Yuan, X. B., Han, L., Wang, G. X., Jia, Z. F., Xu, P., Pu, P.Y., Kang, C. S. (2010): MicroRNA-21 inhibitor sensitizes human glioblastoma cells U251 (PTEN-mutant) and LN229 (PTEN-wild type) to taxol. *BMC Cancer*, 10(1): 1-13. doi:10.1186/1471-2407-10-27

- [156] Gray, W. D., Wu, R. J., Yin, X., Zhou, J., Davis, M. E., Luo, Y. (2013): Dendrimeric bowties featuring hemispheric-selective decoration of ligands for microRNA-based therapy. *Biomacromolecules*, 14(1): 101-109. doi: 10.1021/bm301393z
- [157] Takeshita, F., Patrawala, L., Osaki, M., Takahashi, R. U., Yamamoto, Y., Kosaka, N., Kawamata, M., Kelnar, K., Bader, A. G., Brown, D., Ochiya, T. (2010): Systemic delivery of synthetic microRNA-16 inhibits the growth of metastatic prostate tumors via downregulation of multiple cell-cycle genes. *Molecular Therapy*, 18(1): 181-187. doi: 10.1038/mt.2009.207
- [158] Osaki, M., Takeshita, F., Sugimoto, Y., Kosaka, N., Yamamoto, Y., Yoshioka, Y., Kobayashi, E., Yamada, T., Kawai, A., Inoue, T., Ito, H., Oshimura, M., Ochiya, T. (2011): MicroRNA-143 regulates human osteosarcoma metastasis by regulating matrix metalloprotease-13 expression. *Molecular Therapy*, 19(6): 1123-1130. doi: 10.1038/mt.2011.53
- [159] Takei, Y., Takigahira, M., Mihara, K., Tarumi, Y., Yanagihara, K. (2011): The metastasis-associated microRNA miR-516a-3p is a novel therapeutic target for inhibiting peritoneal dissemination of human scirrhus gastric cancer. *Cancer Research*, 71(4): 1442-1453. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2530
- [160] Hao, Z., Fan, W., Hao, J., Wu, X., Zeng, G. Q., Zhang, L. J., Nie, S. F., Wang, X. D. (2016): Efficient delivery of micro RNA to bone-metastatic prostate tumors by using aptamer-conjugated atelocollagen in vitro and in vivo. *Drug Delivery*, 23(3): 864-871. doi: 10.3109/10717544.2014.920059
- [161] Cao, M., Deng, X., Su, S., Zhang, F., Xiao, X., Hu, Q., Fu, Y., Yang, B. B., Wu, Y., Sheng, W., Zeng, Y. (2013): Protamine sulfate-nanodiamond hybrid nanoparticles as a vector for MiR-203 restoration in esophageal carcinoma cells. *Nanoscale*, 5(24): 12120-12125. doi: 10.1039/c3nr04056a
- [162] Deng, X., Cao, M., Zhang, J., Hu, K., Yin, Z., Zhou, Z., Xiao, X., Yang, Y., Sheng, W., Wu, Y., Zeng, Y. (2014): Hyaluronic acid-chitosan nanoparticles for co-delivery of MiR-34a and doxorubicin in therapy against triple negative breast cancer. *Biomaterials*, 35(14): 4333-4344. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.02.006
- [163] Dominici, M. L. B. K., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., Deans, R.J., Keating, A., Prockop, D.J., Horwitz, E. M. (2006): Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4): 315-317. doi: 10.1080/14653240600855905
- [164] Chamberlain, G., Fox, J., Ashton, B., Middleton, J. (2007): Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem cells*, 25(11): 2739-2749. doi: 10.1634/stemcells.2007-0197
- [165] Baek, G., Choi, H., Kim, Y., Lee, H. C., Choi, C. (2019): Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as therapeutics and as a drug delivery platform. *Stem Cells Translational Medicine*, 8(9): 880-886. doi: 10.1002/sctm.18-0226
- [166] Gilligan, K. E., Dwyer, R. M. (2020): Extracellular vesicles for cancer therapy: Impact of host immune response. *Cells*, 9(1): 224. doi: 10.3390/cells9010224
- [167] Li, Y., Wang, Y., Yu, L., Sun, C., Cheng, D., Yu, S., Wang, Q., Yan, Y., Kang, C., Jin, S., Kong, Y. (2013): miR-146b-5p inhibits glioma migration and invasion by targeting MMP16. *Cancer letters*, 339(2): 260-269. doi: 10.1016/j.canlet.2013.06.018
- [168] Liu, J., Xu, J., Li, H., Sun, C., Yu, L., Li, Y., Shi, C., Zhou, X., Bian, X., Ping, Y., Yu, S. (2015). miR-146b-5p functions as a tumor suppressor by targeting TRAF6 and predicts the prognosis of human gliomas. *Oncotarget*, 6(30), 29129. doi: 10.18632/oncotarget.4895
- [169] Katakowski, M., Buller, B., Zheng, X., Lu, Y., Rogers, T., Osobamiro, O., Shu, W., Jiang, F., Chopp, M. (2013): Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth. *Cancer Letters*, 335(1): 201-204. doi: 10.1016/j.canlet.2013.02.019

- [170] Matsumoto, J., Stewart, T., Banks, W. A., Zhang, J. (2017): The transport mechanism of extracellular vesicles at the blood-brain barrier. *Current pharmaceutical design*, 23(40): 6206-6214. doi: 10.2174/1381612823666170913164738
- [171] Wang, L., Yin, P., Wang, J., Wang, Y., Sun, Z., Zhou, Y., Guan, X. (2019): Delivery of mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles with enriched miR-185 inhibits progression of OPMD. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1): 2481-2491. doi: 10.1080/21691401.2019.1623232
- [172] Arora, S., Swaminathan, S. K., Kirtane, A., Srivastava, S. K., Bhardwaj, A., Singh, S., Panyam, J., Singh, A. P. (2014): Synthesis, characterization, and evaluation of poly (D, L-lactide-co-glycolide)-based nanoformulation of miRNA-150: potential implications for pancreatic cancer therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 9: 2933. doi: 10.2147/IJN.S61949
- [173] Bhattacharyya, S., Kudgus, R. A., Bhattacharya, R., Mukherjee, P. (2011): Inorganic nanoparticles in cancer therapy. *Pharmaceutical Research*, 28(2), 237-259. doi: 10.1007/s11095-010-0318-0
- [174] Hao, L., Patel, P. C., Alhasan, A. H., Giljohann, D. A., Mirkin, C. A. (2011): Nucleic acid-gold nanoparticle conjugates as mimics of microRNA. *Small*, 7(22): 3158-3162. doi: 10.1002/sml.201101018
- [175] Halib, N., Ahmad, I., Grassi, M., Grassi, G. (2019): The remarkable three-dimensional network structure of bacterial cellulose for tissue engineering applications. *International journal of pharmaceutics*, 566: 631-640. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.06.020
- [176] Comella, P., Casaretti, R., Sandomenico, C., Avallone, A., Franco, L. (2009): Role of oxaliplatin in the treatment of colorectal cancer. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 5: 229. doi: 10.2147/tcrm.s3583
- [177] Crew, E., Rahman, S., Razzak-Jaffar, A., Mott, D., Kamundi, M., Yu, G., Tchah, N., Lee, J., Bellavia, M., Zhong, C. J. (2012). MicroRNA conjugated gold nanoparticles and cell transfection. *Analytical Chemistry*, 84(1), 26-29. doi: 10.1021/ac202749p
- [178] Ghosh, R., Singh, L. C., Shohet, J. M., Gunaratne, P. H. (2013): A gold nanoparticle platform for the delivery of functional microRNAs into cancer cells. *Biomaterials*, 34(3): 807-816. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.023
- [179] Alrfaei, B. M., Clark, P., Vemuganti, R., Kuo, J. S. (2020): MicroRNA miR-100 decreases glioblastoma growth by targeting SMARCA5 and ErbB3 in tumor-initiating cells. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 19, 1533033820960748. doi: 10.1177/1533033820960748
- [180] Masoudi, M. S., Mehrabian, E., Mirzaei, H. (2018). MiR-21: A key player in glioblastoma pathogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(2), 1285-1290. doi: 10.1002/jcb.26300
- [181] Théry, C., Zitvogel, L., Amigorena, S. (2002). Exosomes: Composition, biogenesis and function. *Nature Reviews Immunology*, 2, 569–579. doi:10.1038/nri855
- [182] Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G. K., et al. (2018): Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (misev2018): A position statement of the international society for extracellular vesicles and update of the misev2014 guidelines. *Journal of Extracellular Vesicles*, 7, 1535750. doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750.