

Rola *miRNA* w patogenezie, diagnostyce i spersonalizowanej terapii glejaka wielopostaciowego

STRESZCZENIE

Glejak wielopostaciowy (GBM – ang. *glioblastoma multiforme*) to złośliwy i inwazyjny guz mózgu charakteryzujący się wysoką śmiertelnością i nawrotami. Ich silna heterogenność, aktywność mitotyczna, proliferacja mikronaczyniowa i ogniska martwicy indukują oporność terapeutyczną, która powoduje, że 5-letnie przeżycie u pacjentów ze zdiagnozowanym glejakiem wynosi zaledwie 5%. Konieczna jest zatem identyfikacja nowych celów dla poprawy rokowania, lepszego prognozowania i monitorowania efektów leczenia. Sugeruje się, że możliwymi kandydatami do roli biomarkerów klinicznych u pacjentów z glejakiem mogą być *miRNA* – małe jednoniciowe, niekodujące RNA składające się z 20-22 nukleotydów, które uczestniczą w potranslacyjnej regulacji ekspresji genów poprzez procesy interferencji RNA. Uważa się, że ze względu na możliwość kontroli procesów biologicznych leżących u podstaw rozwoju GBM, *miRNA* mogą pomóc w projektowaniu leków dla spersonalizowanej terapii glejaka. Choć zastosowanie *miRNA* jako narzędzi diagnostycznych, prognostycznych i terapeutycznych ma duży potencjał i wydaje się być obiecujące, sporo jest jeszcze w tym temacie niespójności metodologicznych. Wymagają one dalszych badań aby umożliwić standaryzację pomiarów, walidację oraz eliminację nieprzewidzianych działań niepożądanych. W niniejszym artykule przedstawiono najnowsze spojrzenie na rolę *miRNA* w patogenezie i diagnostyce GBM oraz jako potencjalnego celu terapeutycznego.

WPROWADZENIE

Glejak są złośliwymi nowotworami układu nerwowego powstającymi z komórek glejowych: astrocytów, oligodendrocytów, ependymocytów i stanowią 80% wszystkich guzów mózgu. Z uwagi na typ komórek budujących masę guza, glejaki dzieli się na: gwiaździki (astrocytomy), skąpodrzewiaki (oligodendrogliomy), wyściółczaki (ependymomy), rdzeniaki (medulloblastoma) i glejaki wielopostaciowe [1]. Pod względem zmian na poziomie molekularnym podział uwzględnia podtyp: klasyczny, mezenchymalny, neuralny i proneuronalny [2]. Według klasyfikacji z 2021 roku glejaki dzieli się na ograniczone i rozlane oraz glejaki dzieci i dorosłych [3]. 50% wszystkich typów glejaków stanowią glejaki o najwyższym (IV według WHO) stopniu złośliwości, cechujące się niepomyślnym rokowaniem i brakiem możliwości leczenia radykalnego [4]. Przyczyny powstawania tych guzów nie zostały w pełni poznane, dlatego wciąż trwają badania nad lepszym poznaniem biologii tych nowotworów, co może przyczynić się do obniżenia zachorowalności i śmiertelności w tej grupie pacjentów.

Choć terapia GBM wymaga podejścia multidyscyplinarnego, obowiązujące schematy lecznicze nie uległy zmianom od 20 lat, kiedy to pojawiła się publikacja zawierająca protokół Stupp, proponujący maksymalną, ale bezpieczną neurologicznie resekcję chirurgiczną, a następnie skojarzoną radio-chemioterapię z użyciem Temozolomidu (TMZ, leku alkilującego) [5]. Pomimo agresywności leczenia, GBM cechuje się wysokim wskaźnikiem nawrotów, ciężkim przebiegiem i niewielką różnicą w czasie przeżycia między pacjentami leczonymi a nieleczonymi. Oczekuje się zatem nowych rozwiązań terapeutycznych oraz metod wspomagających leczenie podstawowe [6].

Inwazyjny wzrost glejaków w głąb parenchymy mózgu, naciekanie struktur mózgowia, progresja złośliwości w kolejnych nawrotach, hipoksja i silna heterogenność kształtują złośliwy fenotyp guza, a zarazem złożony problem rzutujący na trudności w opracowaniu nowych substancji leczniczych [7]. Ponieważ długość życia pacjentów z GBM zależy od miejscowej kontroli progresji choroby i w efekcie zapobieganiu/spowolnieniu wznowy, istotnym punktem terapii jest proces diagnostyczny. Obecnie diagnostyka tych guzów mózgu opiera się na histopatologicznej ocenie biopsji, rezonansie magnetycznym (MRI), pozytonowej tomografii emisyjnej ze znakowanymi aminokwasami oraz elektroencefalografii (jeśli guz zostaje wykryty przypadkowo w trakcie poszukiwania przyczyny padaczki) [8]. Z tego powodu promuje się dziś poszukiwanie nowych metod diagnostycznych i biomarkerów opartych na analizie płynów biologicznych

dr hab. n med. i n. o zdr.

Anna Bielecka-Wajdman 

Zakład Farmakologii, Katedra Farmakologii,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<https://doi.org/10.18388/cjm9bt80>

✉ Autor korespondencyjny:
bielecka.wajdman@gmail.com

Słowa kluczowe: *miRNA* w terapii glejaka, rola *miRNA* w patogenezie glejaka, *miRNA* jako biomarkery

Wykaz skrótów: AdV – adenowirusy; ctDNA – nowotworowe krążące DNA uwalniane do krwi; CTC – (ang. *circulating Cancer Stem-like Cells*) krążące komórki guza; EV (ang. *Extracellular Vesicles*) – pęcherzyki zewnątrzkomórkowe; GBM (ang. *glioblastoma multiforme*) – glejak wielopostaciowy; LNA (ang. *Locked Nucleic Acids*) – blokowane kwasy nukleinowe; LV – lentiwirusy; *miRNA* – małe jednoniciowe niekodujące RNA; MRI – (ang. *Magnetic Resonance Imaging*) rezonans magnetyczny; si-RNA – krótkie interferujące cząsteczki dwuniciowego RNA; TMZ – (temozolomid) lek alkilujący stosowany w terapii pacjentów z glejakiem.

(dokonywanych w dowolnym momencie terapii) w celu szybkiej oceny umożliwiającej natychmiastowe wdrożenie określonych procedur medycznych [9].

Zgodnie z definicją WHO, biomarkery to substancje umożliwiające jednoznaczny pomiar zmian w organizmie w celu zdiagnozowania lub różnicowania jednostki chorobowej przez swoją obecność lub specyficzne stężenie, na które nie mają wpływu metody badawcze, odczynniki czy materiały stosowane do ich pomiaru. Uważa się, że taką rolę u pacjentów z GBM mogłyby pełnić *miRNA* [10].

BIOGENEZA *miRNA*

Przyznanie w 2024 roku Nagrody Nobla za przełomowe odkrycie (w 1993 roku) *miRNA* przez Victora Ambrosa i Gary'ego Ruvkun'a otworzyło nowe drzwi do badań w zakresie regulacji genów, lepszego zrozumienia chorób nowotworowych, projektowania nowych leków i opracowania terapii „szytych na miarę” [11].

miRNA to klasa małych, jednoniciowych, niekodujących, endogennych RNA kontrolujących ekspresję około 50% genów człowieka [12] i charakteryzujących się specyficzną narządową. Okazuje się, że pojedyncza cząsteczka *miRNA* może równocześnie kontrolować ekspresję setek genów, dlatego określane są one mianem „wielkich-małych dyrygentów orkiestry molekularnej” [13]. *miRNA* pochodzą z pierwotnych transkryptów (pre-*miRNA*), które są transkrybowane z genomu przez polimerazę RNA II. Następnie, w jądrze komórkowym, pre-*miRNA* są modyfikowane i eksportowane do cytoplazmy. Aby zakończyć proces biogenezy *miRNA*, w cytoplazmie pre-*miRNA* są cięte i rozdzielane na dwie nici o długości 19–23 nukleotydów. Nici te tworzą dupleks, w którym nić antysensowna jest włą-

czana do kompleksu RISC (tworząc kompleks wyciszający indukowany *miRNA*, miRISC), podczas gdy nić sensowna ulega degradacji. Komplementarne przyłączenie kompleksu miRISC do specyficznego mRNA w niekodującym regionie 3' mRNA może prowadzić do degradacji mRNA przy wysokim stopniu komplementarności lub do zahamowania ekspresji przy komplementarności częściowej [14].

POCHODZENIE KRĄŻĄCYCH *miRNA*

Istnieje kilka teorii wyjaśniających pochodzenie *miRNA* w krążeniu.

Pierwsza hipoteza sugeruje, że mikrocząsteczki RNA zawarte we krwi mogą pochodzić z rozpadu komórek, które wcześniej uległy apoptozie lub nekrozie w wyniku nagłych zmian patologicznych obejmujących daną tkankę lub narząd. Komórki wchodzące w skład obszaru objętego np. niedokrwieniem, zapaleniem lub są uszkodzone lekami – umierają, a następnie zostają zdegradowane, co skutkuje bierną sekrecją ich zawartości do krwi obwodowej.

Druga hipoteza opiera się na twierdzeniu, że *miRNA* w stanie wolnym zostają uwolnione z komórek w sposób aktywny w odpowiedzi na różne bodźce pochodzenia wewnętrznego i/lub zewnętrznego.

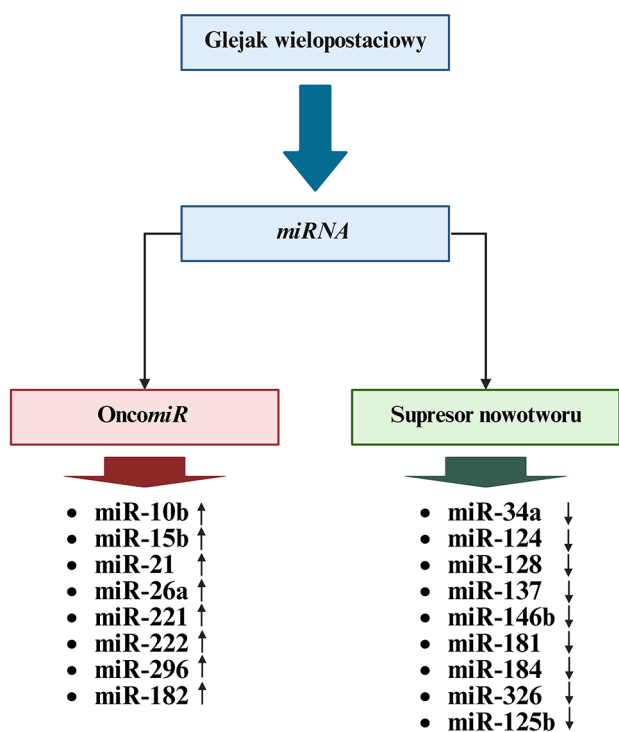
Ostatnia z teorii zakłada natomiast, że *miRNA* zamknięte w struktury otoczone błoną komórkową zostają selektywnie wydzielone w wyniku mechanizmu aktywnego sterowanego przez komórkę.

miRNA mogą zostać upakowane w trzy różne formy transportujące, którymi są: mikropęcherzyki, ciała apoptotyczne i (najczęściej) egzosomy. Duża część *miRNA* krąży również w postaci „wolnej”, związanej z białkami, np. z rodziny Argonaute (AGO) lub związanej z lipoproteinami, np. HDL [15].

OGÓLNE ZNACZENIE *miRNA* JAKO BIOMARKERÓW DLA TERAPII GLEJAKA I ICH PRZEWAGA NAD INNYMI BIOMARKERAMI

Uważa się, że u około połowy loci *miRNA* występują zmiany w regionach genetycznie niestabilnych w komórkach nowotworowych o charakterze delecji, translokacji, amplifikacji, epigenetycznego wyciszania genów, defektów w przebiegu biogenezy czy też rozregulowania czynników transkrypcyjnych. U podłoża tych zaburzeń leży lokalizacja kodujących je genów. Często są one umieszczone w regionach niestabilnych genetycznie, miejscach kruchych lub związanych z rozwojem nowotworu (ang. *cancer associated genomic regions*, CA-GRs) [16]. Ponieważ *miRNA* są zaangażowane w regulację podstawowych cech złośliwości nowotworów (w tym glejaków), tj. proliferację, migrację, cykl komórkowy, różnicowanie komórek macierzystych i angiogenezę, coraz więcej dowodów wskazuje na udział *miRNA* w powstawaniu i rozwój tych guzów [17].

miRNA mogą pełnić przeciwstawne role jako supresory nowotworów i onkogeny (*oncomiR*). Co więcej, sygnalizacja promująca oporność na chemioterapię w glejaku jest również wyzwana przez zmianę onkogennych *miRNA* i



Rycina 1. Podwójna rola *miRNA* w glejaku.

zmniejszenie ekspresji *miRNA* hamujących rozwój nowotworu (Ryc. 1) [18].

Ocena ekspresji sygnatury *miRNA* może być zatem narzędziem diagnostycznym do określenia stadium choroby, rokowań i odpowiedzi na terapię. Ponadto, charakterystyka statusu ekspresji *miRNA* może służyć jako pomoc w odróżnieniu GBM od innych procesów patologicznych (glejak niskiego stopnia, pierwotny chłoniak ośrodkowego układu nerwowego, ropień mózgu), odróżnieniu progresji guza od zmian związanych z leczeniem (pseudoprogresja), stanowić informację o dostosowaniu leczenia w zależności od profilu *miRNA*, a w przyszłości być celem terapeutycznym o znaczeniu klinicznym [19]. Dodatkowo, w związku z brakiem na dzień dzisiejszy badań przesiewowych w kierunku guzów mózgu, lepsze poznanie znaczenia sygnatury ekspresji *miRNA* mogłoby zaspokoić potrzebę opracowania mniej inwazyjnych metod dla wczesnego wykrycia tego typu zmian. Takie wczesne biomarkery mogą być również wykorzystane do przewidywania rozwoju glejaka na wiele lat przed zauważeniem objawów u osób z nerwiakowłókniakowatością lub zespołem Li-Fraumeni, które są zagrożone rozwojem guza.

Koncepcja wykorzystania krwi lub innych płynów ustrojowych (ślina, mocz, płyn mózgowo-rdzeniowy) do badań przesiewowych wielu rodzajów nowotworów, w tym glejaka, niesie ze sobą ogromny potencjał. Guzy uwalniają do krwioobiegu i innych płynów ustrojowych różne składniki w tym: pozakomórkowe kwasy nukleinowe takie jak *miRNA*, krążące DNA (ctDNA), krążące komórki guza (CTC), białka, pęcherzyki zewnątrzkomórkowe, egzosomy i metabolity. Czynniki te przenikają barierę krew-mózg, co stwarza możliwość minimalnie inwazyjnego monitorowania GBM i oceny w czasie rzeczywistym zmian genetycznych, epigenetycznych, transkryptomowych, proteomicznych i metabolicznych [20].

OGRANICZENIA POTENCJALNYCH BIOMARKERÓW DLA TERAPII GLEJAKA

Nie wszystkie substancje, pomimo obiecujących danych, mogą pełnić rolę biomarkerów klinicznych, z uwagi na ich niestabilność. Większość potencjalnych krążących biomarkerów ma krótki okres półtrwania we krwi, pomimo, że niektóre z nich są chronione w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych (EV), co chroni je przed degradacją. Na przykład ctDNA mają krótki okres półtrwania we krwi wynoszący od 16 min do 2,5 godz. uwalniany głównie przez komórki ulegające martwicy lub apoptozie. Podobnie, cytokiny, peptydy i inne białka mają zazwyczaj okres półtrwania krótszy niż 1 godz. we krwi. CTC także wykazują krótki okres półtrwania, wynoszący od 1 do 30 minut w większości tkanek [21]. *miRNA* natomiast ma dłuższy okres półtrwania, wynoszący około 16 godz., podczas gdy okres półtrwania *miRNA* we krwi jest najdłuższy i wynosi około 20 godz. Chociaż zmienność poziomów ekspresji *miRNA* w trakcie przebiegu choroby, w tym przed i po leczeniu lub w momencie nawrotu, dostarcza cennych informacji na temat leczenia GBM, lepsze zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw dysregulacji *miRNA* w patogenezie GBM może stworzyć obie-

cujące możliwości opracowania terapii celowanych i pokonania oporności na leczenie [22].

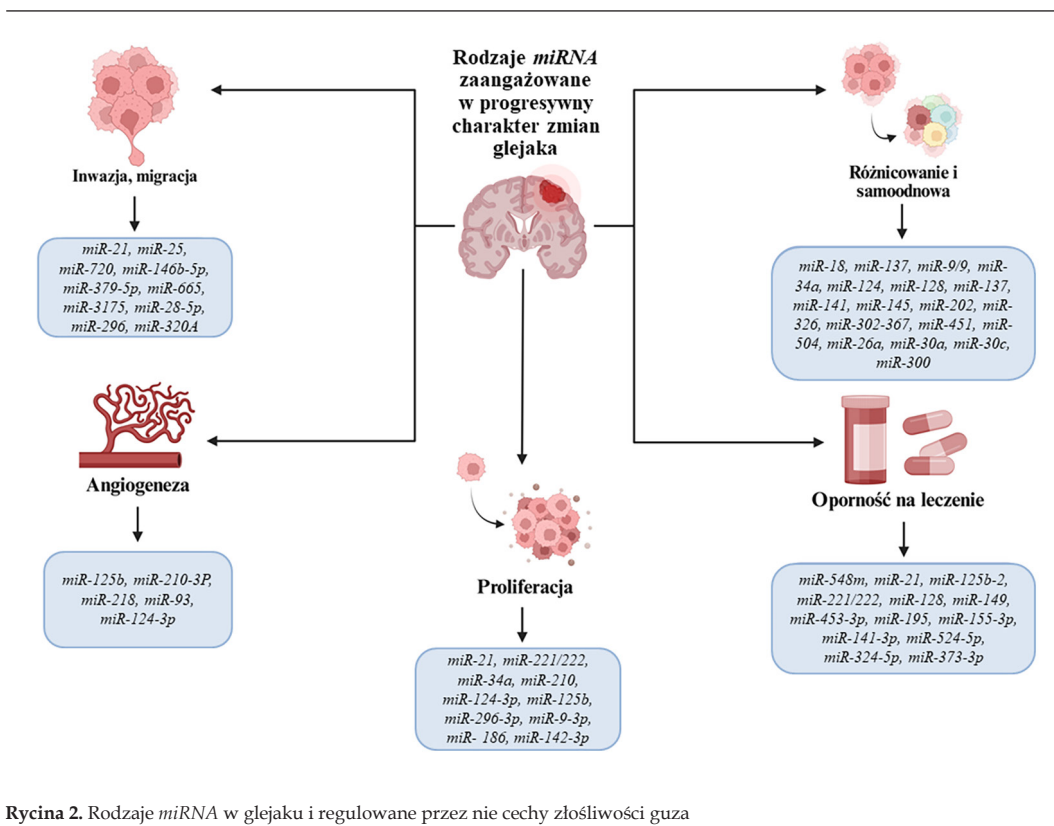
PROFILOWANIE SYGNATUR *miRNA*

Z uwagi na fakt, że zmiany w ekspresji *miRNA* mogą dostarczać cennych informacji na temat dalszego leczenia GBM, wiele badań ostatnich lat koncentruje się na mapowaniu profilu i funkcji *miRNA* w tych guzach. Dostępne dane pokazują, że spośród 2,5 tys. *miRNA* występujących w komórkach ludzkich, około 70% ulega ekspresji w ośrodkowym układzie nerwowym (ekspresję miR-9, miR-124a, miR-124b i miR-135 wykazano wyłącznie w komórkach nerwowych, a miR-23 wyłącznie w astrocytach) [23]. Wiadomo także, że w glejaku, 256 *miRNA* ulega nadekspresji, a 95 *miRNA* wykazuje ekspresję obniżoną. Wykazano m.in. zwiększoną ekspresję: miR-21, miR-10b, miR-15b, miR-16, miR-25, miR-92b, miR-93, miR-106, miR-155, miR-210, miR-17-5p, miR-106, miR-148a, miR-196b oraz zmniejszoną ekspresję miR132, miR-218, miR-124, miR-128a, miR-323, miR-128, miR-7, miR-181b, miR-221, miR-222, miR-31, miR-138, miR-181, miR-379 w komórkach GBM porównywanych ze zdrową tkanką mózgową [24].

Ponadto, specyficzne *miRNA* mogą być skorelowane z różnymi etapami rozwoju guza. Badanie profili ekspresji *miRNA* glejaków, które uległy progresji ze stopnia II do IV wskazały bowiem na udział dwunastu *miRNA* (nadekspresja: miR-9, miR-16, miR-17, miR-19a, miR-20a, miR-21, miR-25, miR-28, mi-130b, mi-130b, miR-140 i miR-210) oraz dwóch *miRNA* o ekspresji obniżonej (miR-184 and miR-328) [25].

Inne badania wykazały z kolei zaangażowanie zmian ekspresji *miRNA* dla poszczególnych stadiów choroby tj.: nadekspresję miR-182 i obniżoną ekspresję *miR-137* w zaawansowanym stadium choroby [26]. Ponieważ dane te zostały zebrane z materiału pochodzącego z biopsji guzów, pojawiają się obawy, że *miRNA* mogą jednak nie być dobrymi biomarkerami, ponieważ mózg ma niewielki wpływ na stężenie *miRNA* we krwi w porównaniu z innymi narządami, a także dlatego, że różnice w liczbie komórek krwi mogą wyraźniej wpływać na zmienność w krążących profilach *miRNA* [27].

Inne badania przeprowadzone na próbkach krwi pobranych od pacjentów z glejakiem pokazały z kolei podwyższoną ekspresję *miR-21*, *miR-222* i *miR-182* w porównaniu do zdrowych osób. Sugeruje się zatem, że *miR-21* i *miR-222* mogą być używane jako marker do rozróżniania guzów glejowych od innych guzów wewnątrzczaszkowych oraz mogą pełnić rolę markerów prognostycznych. Stwierdzono bowiem, że ekspresja *miR-21* była znacznie podwyższona na kilka lat przed wystąpieniem objawów glejaka u pacjentów [28].



Rycina 2. Rodzaje *miRNA* w glejaku i regulowane przez nie cechy złośliwości guza

Rodzaje *miRNA* w glejaku i regulowane przez nie cechy złośliwości guza przedstawiono na Ryc. 2.

PANELE *miRNA*

Choć wiele badań w przedklinicznych modelach eksperymentalnych analizowało do tej pory w większości profile ekspresji pojedynczych *miRNA*, (-21/128/296/10b/34a) obecnie większą uwagę jako potencjalnych biomarkerów w diagnostyce i terapii glejaka zwraca się na panele *miRNA*, przede wszystkim w materiale klinicznym [29]. Sugeruje się dziś, że analizowanie jednej, wybranej cząsteczki *miRNA* jest niewystarczające, ponieważ zmiany zachodzące w komórkach nowotworowych są zależne od ekspresji różnych *miRNA* o działaniu plejotropowym. Udowodniono, że połączenie kilku *miRNA* zwiększa dokładność potencjalnych markerów w porównaniu do markerów pojedynczych [30]. Dotychczasowe eksperymenty wykazały, że małe panele *miRNA*, w których badano stężenie dwóch lub trzech *miRNA*, mogą rozróżnić pacjentów z glejakiem od osób zdrowych (panel 3 diagnostycznych *miRNA*: miR-223, miR-23a oraz miR-21) oraz określać czułość w zakresie 70%. Korzystając z panelu dziewięciu *miRNA* jako markerów diagnostycznych można odróżnić pacjentów z glejakiem od zdrowych osób z dokładnością wynoszącą 99,8% [31].

Na podstawie dotychczasowych wyników sugeruje się, że panele *miRNA*: (93,590/3p/454), (124/21), (9/92), (124/219/5p), (15b/5p/16/5p), (19a/9p), (20a/5p), (105a/5p), (130/3p), (181b/5p), (208a/3p) są kandydatami do dalszych badań [32]. Cząsteczki te bowiem wykazują potencjał terapeutyczny i mogą być w przyszłości wykorzystywane zarówno jako nowoczesne narzędzie diagnostycz-

ne jak i terapeutyczne. W perspektywie czasowej panele *miRNA* mogą zatem pomóc w: przewidywaniu agresywności guza, określeniu czasu przeżycia pacjenta związanego z gorszym rokowaniem (przy podwyższonym poziomie *miRNA*-21, 1-b, 221/222), ujawnieniu chemooporności (*miRNA*: 148a, 27b, 125b) a także stanowić uzupełnienie standardowej diagnostyki obrazowej, która nie daje informacji o pełnej ocenie molekularnej guza.

Główne ograniczenia paneli *miRNA* w ich wprowadzeniu do praktyki klinicznej obejmują brak standaryzacji metod, wpływ różnych czynników na poziom *miRNA* oraz koszty zaawansowanych metod

wykrywania. Mimo to, panele *miRNA* są głównym przedmiotem zaawansowanych badań klinicznych i meta-analiz dążących do szerokiego wprowadzenia do praktyki onkologicznej [33].

ZNACZENIE *miRNA* W MECHANIZMACH APOPTOZY I OPORNOŚCI NA TERAPIĘ

Obecne standardy leczenia glejaka obejmujące cytoredukcyjną resekcję chirurgiczną z następczą radio-chemioterapią mają jedynie charakter paliatywny i opóźniające nawrót choroby [34]. Głównym wyzwaniem w opracowaniu nowych leków dla pacjentów z GBM jest silna heterogenność guzów przekładająca się na odpowiedź na terapię oraz różne profile genotypowe glejaka oraz profile *miRNA*.

Z uwagi jednak na korelację między ekspresją *miRNA* a progresją GBM uważa się, że *miRNA* mogą być ważnymi regulatorami oporności na leki stosowane w GBM. Srinivasan i wsp. [35] po profilowaniu *miRNA* guzów od 222 pacjentów wyłonili 3 sygnatury o właściwościach ochronnych (miR-20a, miR-106a i miR-17-5p) oraz 7 wykazujących silny związek z przeżywalnością pacjentów (miR-31, miR-222, miR-248a, miR-221, miR-146b, miR-200b i miR-193a). Wykazano również związek między zwiększoną ekspresją: miR-21, miR-182 i miR-196 i obniżoną ekspresją miR-181b i miR-106 a słabą odpowiedzią na leczenie [36]. W innym badaniu z kolei (na liniach komórkowych glejaka), którego celem była analiza roli *miRNA* w oporności glejaka na temozolomid zidentyfikowano 3 najbardziej regulowane *miRNA* w opornych komórkach glejaka i były to: miR-195, miR-455-3p i miR-10a, jednak nokaut miR-195 miał największy wpływ na inicjowanie śmierci w komórkach nowotworo-

wych znacznie zwiększając skuteczność TMZ [37]. Podobne badanie przeprowadzone na 22 próbkach pochodzących z guzów wyłoniły zmniejszoną ekspresję miR-221, miR-222, miR-181b, miR-181c i miR-128 przy jednoczesnym zwiększeniu ekspresji miR-21. Obniżona ekspresja miR-181b i miR-181c sugeruje, że cząsteczki te mogłyby być markerami predykcyjnymi w odpowiedzi na terapię TMZ [38].

Najszerzej w literaturze opisywana jest rola miR-21, którego silna ekspresja wykryta została w wielu typach nowotworów, w tym glejaku [39,40,41,42]. Uważa się, że miR-21 może służyć jako marker diagnostyczny, bowiem jak wskazują ostatnie dowody, poza tkankami, jest on obecny w różnych rodzajach płynu zewnątrzkomórkowego, np. w osoczu, serum, płynie mózgowo-rdzeniowego, ślinie, soku żołądkowym, soku trzustkowym, płucach, czy torbieli trzustki [43]. Ponieważ poziom miR-21 jest stale regulowany w GBM i kieruje licznymi szlakami sygnałowymi zaangażowanymi w przeżycie, proliferację, inwazję i apoptozę, nie jest zaskakujące, że odkryto również jego rolę w lekooporności. Shi i in. [44] ustalili, że nadmierna ekspresja miR-21 znacząco hamowała wpływ TMZ na apoptozę, która była pośredniczona przez osłabienie ekspresji białek proapoptotycznych: Bax i kaspazy-3, a także zwiększenie ekspresji białka antyapoptotycznego białka Bcl-2. Ponadto liczne inne badania analizujące wpływ miR-21 na lekooporność w GBM pokazały, że hamowanie miR-21 może zwiększać chemioterapię ludzkich komórek GBM na TMZ, paklitaksel, sunitynib, doksorubicynę [45,46,47].

miRNA JAKO CEL TERAPEUTYCZNY DLA TERAPII SPERSONALIZOWANEJ

Spersonalizowana terapia glejaka oparta na *miRNA* ma charakter dwukierunkowy, polegający z jednej strony na inaktywacji endogennych *miRNA* za pomocą inhibitorów (anty-miRNA/antago-miRs), hamowaniu onkogenów (poprzez wprowadzenie mimetyków *miRNA* lub si-RNA, Tab. 1) [48].

Inhibitory *miRNA* powinny się charakteryzować: dużym powinowactwem do wybranego *miRNA*, niską toksycznością, odpornością na degradację i możliwością efektywnego dostarczenia do organizmu [49]. Dotychczas przeprowadzone badania na modelach *in vivo* pokazały, że zastosowanie inhibitorów nukleotydu antysensownego miR-10b doprowadziło do obniżenia poziomu docelowego *miRNA*, zahamowało wzrost i progresję ksenoprzeszczepionych glejaków przy równoczesnym braku ogólnoustrojowej toksyczności [50]. W warunkach klinicznych jednak wprowadzenie oligonukleotydów do krążenia ogólnego jest skomplikowane, z uwagi na obecność bariery krew-mózg oraz ich degradację, co rodzi konieczność wprowadzania oligonukleotydu dokomorowo lub śródmózgowo przy zastosowaniu chirurgii stereotaktycznej.

Alternatywą do antysensownych oligonukleotydów mogą być także tzw. „gąbki” *miRNA* (ang. *miRNA sponges*), powstałe na bazie ich naturalnego odpowiednika - cyklicznego RNA (zawierającego wiele miejsc wiązań specyficznych dla docelowego *miRNA*) [51]. W modelach eksperymentalnych *in vitro* i *in vivo* wykazano ich zdolność do

hamowania miR-23b pełniącego rolę onkogeny, co w efekcie doprowadziło do znacznego obniżenia poziomu HIF-1a, MMP-2, VEGF, b-keniny, zahamowało migrację, angiogenezę i inwazję komórek nowotworowych [52].

Terapia celowana w *miRNA* ma również na celu przywrócenie ich utraconej funkcji, zwłaszcza jeśli chodzi o aktywność supresorów nowotworów, co można osiągnąć poprzez wprowadzenie syntetycznych mimetyków *miRNA* o sekwencjach identycznych do naturalnych. Przykładem mogą być eksperymenty z wykorzystaniem transfekcji mimetyków *miR-203* do komórek glejaka wielopostaciowego (linia U251 glejak), co spowodowało spadek poziomu miR-203 w porównaniu do glejaka o niższym stopniu złośliwości i doprowadziło do zahamowania onkogeny PLD-2 (fosfoliazy D2). Zahamowało to równolegle proliferację i inwazję komórek U251, wskazując na zdolność mimetyków do korygowania niedoboru *miRNA* [53].

Celowane dostarczanie syntetycznych mimetyków *miRNA* do komórek glejaka *in vivo* i komórek macierzystych glejaka w hodowlach komórkowych można przeprowadzić za pomocą mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych ze szpiku kostnego, łożyska i tkanki tłuszczowej. Wykazano, że taki zabieg (z wykorzystaniem mimetyków *mir-124* i *miR-145* wprowadzonych do komórek glejaka przy użyciu komórek macierzystych mezenchymalnych) prowadził do zahamowania migracji komórek glejaka i osłabiania samoodnawiania komórek macierzystych guza [54].

Innym atrakcyjnym podejściem w leczeniu glejaków może być zastosowanie si-RNA, krótkich interferujących cząsteczek dwuniciowego RNA, które potencjalnie mają możliwość hamowania szlaków sygnałowych związanych z rozwojem i progresją glejaków, np. geny *EGFR* i b-keniny [55]. Badania przesiewowe siRNA całego genomu glejaka wyłoniły dwa typy siRNA, które celują w ubikwintynę c i białko disheveled 2 (zaangażowane w sygnalizację Wnt), co skutkowało zwiększeniem wrażliwości komórek macierzystych glejaka na TMZ [56]. Wykazano, że bezpośrednie wstrzyknięcie siRNA do ksenoprzeszczepów guzów (podskórnych) mysich spowodowało zahamowanie wzrostu guza u wszystkich badanych osobników [57].

SYSTEMY DOSTARCZANIA miRNA I WYZWANIA DLA TERAPII OPARTYCH NA miRNA

Spersonalizowane terapie oparte na indywidualnych profilach *miRNA* w celu zwiększenia skuteczności leczenia stanowią obiecujące podejście terapeutyczne. Rodzaj odpowiedniego systemu dostarczenia *miRNA* może mieć wpływ na zapewnienie stabilności *miRNA*, ochronę przed RNAzami, a w efekcie na efektywność terapii [58]. Wśród najbardziej rokujących rozwiązań związanych z dostarczaniem *miRNA* są nanocząstki lipidowe (LNP), nanocząstki polimerowe i egzosomy.

Terapia LNP-*miRNA* uważana jest za jedną z najbardziej „inteligentnych” metod dostarczania *miRNA*, wykazującą doskonałą biokompatybilność i wysoką wydajność kapsułkowania RNA. LNP, działając jak ochronny nośnik *miRNA*, chronią przed degradacją enzymatyczną i umożliwiają sta-

Tabela 1. Wyniki terapii eksperymentalnych z zastosowaniem *miRNA* w modelach *in vitro* i *in vivo* glejaka.

Rodzaj <i>miRNA</i>	Rodzaj terapii	<i>miRNA</i> stosowane w kombinacji	Cel terapii	<i>In vitro</i> / <i>in vivo</i>	Ilość badań	Wyniki badań	Ref.
Inhibitor <i>miRNA</i> -21	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 15a, inhibitor <i>miRNA</i> -16, inhibitor <i>miRNA</i> 20a, inhibitor <i>miRNA</i> -26, inhibitor <i>miRNA</i> 222, mimetyk <i>miRNA</i> 100	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	12	Indukcja apoptozy komórek glejaka, zmniejszenie migracji komórek glejaka, brak różnicy skuteczności terapii kombinowanej z pemetrexedem, najlepszy efekt synergistyczny po podaniu jednocześnie <i>miRNA</i> 21/20a oraz zmniejszenie objętości guza, poprawa przeżywalności myszy	[103, 104, 105, 106]
Mimetyk <i>miRNA</i> -7	kombinowana	mimetyk <i>miRNA</i> -181, mimetyk <i>miRNA</i> 195	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	3	Efekt addytywny w przypadku zastosowania par mimetyków <i>miRNA</i> 7/181 oraz 7/19. Hamowanie wzrostu, migracji i inwazji komórek nowotworowych, indukcja apoptozy. Zmniejszenie rozmiaru guza.	[107, 108]
Mimetyk <i>miRNA</i> 135a	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	1	Wzrost przeżywalności zwierząt, inhibicja wzrostu glejaka	[109]
Inhibitor <i>miRNA</i> -221	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 222	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	2	Drastyczne obniżenie żywotności komórek nowotworowych	[110]
Mimetyk <i>miRNA</i> -222	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 221	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	2	Obniżenie żywotności komórek <i>in vitro</i> po podaniu <i>miRNA</i> 222	[111, 112]
Mimetyk <i>miRNA</i> 34a	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	2	Inhibicja wzrostu guza z ludzkich komórek glejaka u myszy	[113]
Inhibitor <i>miRNA</i> 26	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 21	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Synergistyczny efekt w wyniku podaniu obydwu inhibitorów, zwiększenie efektu cytotoksycznego	[114]
Inhibitor <i>miRNA</i> 20a	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 15a, inhibitor <i>miRNA</i> 16, inhibitor <i>miRNA</i> 21	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Synergistyczny efekt w wyniku podania obydwu inhibitorów: znaczące zwiększenie efektu cytotoksycznego. W przypadku pary <i>miRNA</i> -20a/21, dodatkowo stwierdzono indukcję apoptozy (ok. 45%)	[115]
Inhibitor <i>miRNA</i> -15a		inhibitor <i>miRNA</i> 20a, inhibitor <i>miRNA</i> 21					
Inhibitor <i>miRNA</i> 16		inhibitor <i>miRNA</i> -20a, inhibitor <i>miRNA</i> 21, inhibitor <i>miRNA</i> -222					
Mimetyk <i>miRNA</i> 100	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> 21	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	1	Wzrost przeżywalności myszy w wyniku podania <i>miRNA</i> oraz temozolomidu, istotne zmniejszenie wielkości guza u myszy	[116]
Mimetyk <i>miRNA</i> 181	kombinowana	mimetyk <i>miRNA</i> 7, mimetyk <i>miRNA</i> 195	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Addytywny efekt w wyniku podaniu obydwu inhibitorów, zwiększenie efektu cytotoksycznego, lecz brak zauważalnej synergii	[117]
Mimetyk <i>miRNA</i> 195		mimetyk <i>miRNA</i> -7, mimetyk <i>miRNA</i> 181					
Mimetyk <i>miRNA</i> 124a	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Znaczące zmniejszenie proliferacji komórek macierzystych glejaka oraz zwiększenie mediany przeżywalności o połowę	[118]
Mimetyk <i>miRNA</i> -124-3p	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	1	Zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1 w modelu ksenoprzeszczepów glejaka wielopostaciowego.	[119]
Mimetyk let-7a <i>miRNA</i>	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Zastosowanie magnetycznych nanocząstek zawierających <i>miRNA</i> w połączeniu z kontrolowaną hipertermią prowadzi do indukcji apoptozy w komórkach glejaka	[120]

Rodzaj <i>miRNA</i>	Rodzaj terapii	<i>miRNA</i> stosowane w kombinacji	Cel terapii	<i>In vitro</i> / <i>in vivo</i>	Ilość badań	Wyniki badań	Ref.
Mimetyk let-7g <i>miRNA</i>	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Wykorzystanie nanocząstek PAMAM z dodatkiem gadolinu do specyficznego transportu <i>miRNA</i> oraz epirubicyny do glejaka. Znaczący spadek żywotności komórek <i>in vitro</i> , akumulacja nośnika w guzie <i>in vivo</i>	[121]
Mimetyk <i>miRNA</i> 124	kombinowana	mimetyk <i>miRNA</i> -145	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	1	Opracowanie metody transportu <i>miRNA</i> z użyciem egzosomów otrzymanych z komórek mezenchymatycznych. Efektem terapii jest spadek ekspresji SCP-1 i CDK6 oraz obniżenie przeżywalności komórek guza	[122]
Mimetyk <i>miRNA</i> 145		mimetyk <i>miRNA</i> -124					
Mimetyk <i>miRNA</i> 129-3p	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Podanie <i>miRNA</i> powoduje inhibicję ekspresji genu E2F5, czego efektem jest obniżenie żywotności komórek glejaka	[123]
Mimetyk <i>miRNA</i> 137	kombinowana	inhibitor <i>miRNA</i> -10b	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Opracowanie strategii leczenia opartej o inhibicję receptorowych kinaz tyrozynowych i działanie <i>miRNA</i> . Nośniki przenikają barierę krew-mózg oraz powodują spadek przeżywalności glejaka	[124]
Inhibitor <i>miRNA</i> -10b		mimetyk <i>miRNA</i> -137					
Mimetyk <i>miRNA</i> 138-5p	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Inhibicja circ_002136 w połączeniu z podaniem <i>miRNA</i> znacząco zmniejszyło żywotność, zdolność do migracji oraz angiogenezy glejaka	[125]
Mimetyk <i>miRNA</i> -143	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Podanie mimetyków zatrzymuje proliferację komórek <i>in vitro</i> oraz spowalnia wzrost guza oraz angiogenezę <i>in vivo</i> poprzez inhibicję N-RAS	[126]
Mimetyk <i>miRNA</i> -181b-5p	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Podanie <i>miRNA</i> zmniejsza żywotność komórek w warunkach <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i> , a także dodatkowo uwarżliwia je na działanie temozolomidu poprzez zmniejszenie ekspresji Bcl-2	[127]
Mimetyk <i>miRNA</i> -181d	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Indukcja apoptozy oraz zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 w hodowli komórek glejaka <i>in vitro</i> , znaczące spowolnienie wzrostu guza <i>in vivo</i>	[128]
Mimetyk <i>miRNA</i> -182	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Podanie <i>miRNA</i> inicjuje apoptozę poprzez aktywację kaspazy-3 i 7 w hodowli komórek glejaka <i>in vitro</i> , zastosowane nanocząstki penetrują barierę krew-mózg i zmniejszają wielkość guza <i>in vivo</i>	[129]
Inhibitor <i>miRNA</i> -210	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Znacząca inhibicja proliferacji, migracji oraz procesu formowania sferoidów. Indukcja apoptozy opartej o generowanie RFT	[130]
Mimetyk <i>miRNA</i> -148a	kombinowana	mimetyk <i>miRNA</i> 296-5p	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>	1	Skuteczna transfekcja komórek glejaka z użyciem nanocząstek polimerowych, zatrzymanie wzrostu guza oraz wydłużenie przeżywalności myszy	[131]
Mimetyk <i>miRNA</i> -296-5p		mimetyk <i>miRNA</i> -148a					
Mimetyk <i>miRNA</i> -302	kombinowana	mimetyk <i>miRNA</i> -367	glejak wielopostaciowy	obydwa, wyniki spójne	1	Zmiana morfologii oraz spadek proliferacji komórek macierzystych glejaka (GSCs) <i>in vitro</i> po dostarczeniu <i>miRNA</i> z użyciem egzosomów, zmniejszenie wielkości guza wynikające z promowania parakrynnego supresji guza <i>in vivo</i>	[132]
Mimetyk <i>miRNA</i> -367	monoterapia	mimetyk <i>miRNA</i> -302	glejak wielopostaciowy	<i>in vivo</i>			[139]

Rodzaj <i>miRNA</i>	Rodzaj terapii	<i>miRNA</i> stosowane w kombinacji	Cel terapii	<i>In vitro / in vivo</i>	Ilość badań	Wyniki badań	Ref.
Inhibitor <i>miRNA-9</i>	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Udowodnienie znaczenia <i>miRNA 9</i> w mechanizmie oporności na TMZ w komórkach glejaka. Opracowanie skutecznej metody transportu inhibitora z użyciem egzosomów	[133]
Mimetyk <i>miRNA-205</i>	monoterapia	-	glejak wielopostaciowy	<i>in vitro</i>	1	Ok. 15% inhibicja proliferacji komórek <i>in vitro</i> glejaka po podaniu <i>miRNA</i> , zatrzymanie cyklu w fazie G0/G1, indukcja apoptozy, spadek ekspresji VEGF-A	[134]
Mimetyk <i>miRNA-146b</i>	monoterapia	-	glejakomięsak	obydwa, wyniki spójne	1	Spowolnienie proliferacji komórek glejakomięsaka <i>in vitro</i> , zmniejszenie guza po 5 dniach od podania egzosomów zawierających <i>miRNA</i>	[135]
Mimetyk cel- <i>miRNA-67</i>	monoterapia	-	glejakomięsak	obydwa, wyniki spójne	1	Brak istotnego efektu	[136]

bilne dostarczenie terapeutycznego RNA do wnętrza komórek nowotworowych na drodze endocytozy. Ponadto, nanocząstki te mogą być dalej modyfikowane za pomocą ligandów docelowych, takich jak przeciwciała lub peptydy (np. kwas hialuronowy, peptydy naśladujące fibronektynę), w celu poprawy precyzji dostarczenia (szczególnie przez barierę krew-mózg) i zwiększenia tym samym efektów terapeutycznych [59]. LNP wykazały już znaczny sukces w terapiach opartych na RNA i są obecnie szeroko badane pod kątem dostarczenia *miRNA* w różnych modelach raka [60]. Obecnie trwają badania kliniczne fazy I oceniające bezpieczeństwo szczepionek RNA-LNP dla pacjentów z nowo diagnozowanym glejakiem, wykorzystujące personalizowane RNA z guza pacjenta. Dotychczas wykazano również skuteczność LNP-*miRNA* w walce z: czerniakiem, rakiem trzustki, rakiem piersi i rakiem płuc w modelach przedklinicznych i wczesnych fazach badań klinicznych. Udowodniono między innymi efektywność tej terapii w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych i guzów oraz zwiększenia wrażliwości na terapię. Mimo dużego potencjału terapii LNP-*miRNA*, stanowiącej przyszłość precyzyjnej onkologii, dużym wyzwaniem pozostaje jej toksyczność, immunogenność kumulacja w wątrobie oraz wysokie koszty [61]

Nanocząstki polimerowe są obiecującym narzędziem do dostarczenia *miRNA*, mającym na celu ochronę delikatnych cząsteczek *miRNA* przed degradacją enzymatyczną, pokonanie bariery krew-mózg oraz zwiększenie precyzji terapii. Przykładem polimerowych systemów dostarczenia mogą być: PBAE (poli(beta-aminoestry)) używane do dostarczenia *miRNA* do komórek macierzystych glejaka; chitozan wykorzystywany do stabilizacji *miRNA* i ułatwienia pobierania przez komórki docelowe, PLGA (Poli(laktyd-ko-glikolid)) używany do dostarczenia antysensownego *miRNA-21*, czy kopolimery (PLGA-HPG) wykorzystywane do przełamania oporności komórek glejaka [62]. Nanocząstki polimerowe mogą być np. wykorzystywane do terapii kombinowanej glejaka, polegającej na równoczesnym dostarczeniu miR-124 i anty-miR-21, co pozwala na zmniejszenie inwazyjności guza poprzez regulację szlaków sygnałowych (RAS/PI3K/PTEN/AKT). Mimo obiecujących wyników *in vitro* i *in vivo* dużym wyzwaniem pozostaje translacja kliniczna omawianej terapii i optymalizacja stabilności we krwi [63].

Najczęściej wykorzystywanymi w onkologii wektorami do dostarczania materiału genetycznego, w tym *miRNA*, są adenowirusy (AdV) i lentiwirusy (LV). Są one uważane za skuteczne narzędzia do dostarczania *miRNA* z uwagi na wysoki potencjał transferu genów i precyzję. LV po wnikięciu do komórki i przepisaniu na DNA integrują się z genomem gospodarza, umożliwiając stabilną i długotrwałą ekspresję *miRNA* (także w komórkach nieproliferujących). Stosowane są w terapiach genowych wymagających trwałej zmiany profilu ekspresji *miRNA*.

AdV z kolei posiadają genom, który nie integruje się z genomem gospodarza, zapewniając bardzo wysoką, lecz krótkotrwałą ekspresję transgenów. Idealne do doraźnych terapii, gdzie wymagany jest szybki efekt przeciwnowotworowy. Wykazano dotąd, że lentiwirusowa ekspresja antysensownych *miRNA* (miR-27a) skutecznie hamowała proliferację i inwazyjność komórek glejaka U87 *in vitro*. AdV natomiast powodowały zmniejszenie wzrostu glejaka w modelach zwierzęcych bez znaczącej hepato/neurotoksyczności [64].

Wektory wirusowe pozostają jednak wyzwaniem z racji wywoływania odpowiedzi immunologicznej (AdV) i zagrożenia mutagennego (LV). Trwające postępy mają na celu optymalizację wektorów, aby zrównoważyć ich wydajność oraz bezpieczeństwo [65].

Systemy dostarczania oparte na egzosomach. Te sferyczne nanopęcherzyki błonowe o wielkości 30-150 nm odkryte w 1983 roku, bogate w cząsteczki takie jak mRNA, długie niekodujące RNA, koliste RNA i *miRNA*, także zyskały na popularności dzięki ich naturalnej roli w komunikacji międzykomórkowej. Egzomy działają jak naturalne „mini-paczki z wiadomościami”, przenoszą białka, lipidy i materiał genetyczny między komórkami oraz oddziałują na wiele szlaków sygnałowych, takich jak: EGFR, p53, Notch, PI3K/AKT. Pęcherzyki te skutecznie transportują *miRNA* bez wywoływania odpowiedzi immunologicznej, oferując doskonałą biokompatybilność, niską toksyczność (w porównaniu z syntetycznymi nanocząsteczkami), penetrację przez barierę krew-mózg i działając supresyjnie lub/i onkogennie na guz [66]. Komórki nowotworowe aktywnie produkują,

uwalniają i wykorzystują egzosomy w celu promowania wzrostu, progresji guza i remodelingu mikrośrodowiska. Pochodzące z guza egzosomy niosą również informację molekularną i genetyczną, która może zmieniać cechy fenotypowe i funkcjonalne komórek biorcy. Poprzez transfer onkogennych białek, RNA i innych bioaktywnych cząsteczek, egzosomy mogą przeprogramować komórki biorcy w aktywnych uczestników różnych procesów kluczowych dla rozwoju guza. Dodatkowo, egzosomy mogą być inżyniersko zaprojektowane w taki sposób, aby przenosić większe pakiety *miRNA*, a także specyficzne leki, co czyni je obiecującymi nośnikami w terapiach celowanych (np. w onkologii) [67].

Pozyskiwanie egzosomów w potencjalnej terapii *miRNA* z biopsji płynnych daje ogromne nadzieje na poprawę diagnostyki glejaka, bezinwazyjnego monitorowania progresji choroby, zwiększenie wrażliwości na leczenie i opracowanie spersonalizowanej strategii leczenia. Egzosomy *miRNA* mogą być również uzyskiwane z komórek macierzystych guza, makrofagów typu M2 i komórek supresorowych pochodzenia mieloidalnego (MDSC) [68]. Choć związek egzosomalnych *miRNA* z glejakami nie został jeszcze w pełni scharakteryzowany, a dotychczasowe dane ograniczają się do poziomu komórkowego, dalsze badania i walidacja kliniczna jest niezbędna, aby w pełni wykorzystać potencjał egzosomów w leczeniu guza.

Do tej pory wykazano, że w okresie progresji procesu nowotworowego, uwalnianie egzosomu pochodzącego z komórek guza było znacząco zwiększone w porównaniu z komórkami prawidłowymi. W licznych badaniach odnotowano znaczący wzrost ekspresji egzosomalnego *miR-21* w surowicy pacjentów z glejakiem [69]. Santagelo i wsp. zaobserwowali, że po operacji poziomy egzosomalnego *miR-21* izolowanego z surowicy pacjentów były znacznie wyższe u osób z glejakiem wysokiego stopnia w porównaniu z osobami z glejakiem niskiego stopnia. Zidentyfikowali oni trzy *miRNA* związane z egzosomami krwi (*miR-21*, *miR-222*, *miR-124-3*), które mogą pomóc w wykrywaniu i różnicowaniu glejaka z próbek surowicy krwi. Ponadto Akers i wsp. zaobserwowali znacząco podwyższone poziomy *miR-21* w płynie mózgowo rdzeniowym pacjentów z glejakiem. Dlatego egzosomalny *miR-21* jawi się jako wiarygodny biomarker w diagnostyce tej grupy chorych. Poza egzosomalnym *miR-21* jeszcze kilka egzosomalnych *miRNA* wykazało potencjał jako biomarkery w diagnostyce glejaka tj.: *miR-10*, *miR-449*, *miR-5194*. *miR-210* został potwierdzony jako biomarker dla pacjentów z tego typu guzem [70].

Przełomowym podejściem w onkologii, otwierającym drogę do precyzyjnych terapii celowanych związanych z dostarczaniem *miRNA* do komórek guza, są blokowane kwasy nukleinowe (ang. *Locked Nucleic Acids*; LNA) - chemicznie zmodyfikowane związki wykazujące powinowactwo do docelowych *miRNA*. Stanowią one jedną z najbardziej zaawansowanych modyfikacji chemicznych stosowanych w systemach dostarczania *miRNA* oraz w technologiach anty-*miR* (inhibitorach *miRNA*) zaprojektowanych do wyciszenia konkretnych *miRNA* [71]. Dzięki swojej unikalnej strukturze, LNA zwiększają stabilność cząsteczek i ich powinowactwo do docelowych sekwencji RNA. Cechuje je również

większa specyficzność działania i tym samym słabsze efekty typu „off target”. Dotychczasowe badania potwierdzają, że wyciszenie onkogennych *miRNA* za pomocą technologii LNA (np. przeciwko *miR-21* lub *miR-221/222*) prowadzi do zwiększonej apoptozy komórek glejaka, zmniejszenia ich zdolności do inwazji oraz zwiększenia wrażliwości na cytostatyki (np. temozolomid). Dodatkowo, LNA, wyciszając oncomiR-y mogą przywrócić funkcję genu supresorowego guza, hamować progresję guza i zapewniać długotrwałe efekty terapeutyczne, zmniejszając potrzebę częstego dawkowania [72].

Mimo ogromnego potencjału, technologia LNA w leczeniu glejaka wciąż boryka się z problemami dystrybucji wewnątrzczaszkowej, dostarczaniem cząsteczek LNA do konkretnego guza oraz potencjalnym efektem „off-target” (nieumyślnym blokowaniem innych genów). Ze względu na trudności z przechodzeniem przez barierę krew-mózg, w badaniach stosuje się nanokapsułki lipidowe (LNCs) sprzężone z LNA oraz egzosomy, co pozwala na skuteczne wyciszenie *miR-21* w komórkach glejaka U87MG w badaniach przedklinicznych [73].

Obecnie badania dotyczące zastosowania LNA w onkologii przechodzą z fazy *in vitro* (linie komórkowe) do zaawansowanych modeli zwierzęcych i wczesnych faz badań klinicznych. Przykładem takich badań może być LNA-anty-*miR21*, skutecznie hamujący wzrost guza i nasilający apoptozę w raku jelita grubego i czerniaku, czy LNA -anty-*miR-155* zatrzymującym proliferację w komórkach chłoniaka z komórek B czy w końcu LNA-*miR-122* (Miravirsen), osłabiający migrację i inwazję w raku wątrobowokomórkowym [74].

Kolejne innowacyjne narzędzia obejmujące systemy dostarczania *miRNA* oparte są na CRISPR-Cas9 - technologii pozwalającej na precyzyjną edycję genomu, działającą jak „genetyczne nożyczki”. Metoda ta pozwala na celowanie i wyłączenie („knockout”) konkretnych genów odpowiedzialnych za progresję glejaka (np. *PLK-1* - ang. *polo-like kinase 1*; *EGFRvIII*), przełamanie oporności nowotworu, namierzenie powtarzających się sekwencji DNA w komórkach guza, „pocięcie ich” i zniszczenie (ang. *cancer shredding*), przy jednoczesnym oszczędzeniu zdrowych komórek [75]. Zastosowanie technologii CRISPR-Cas9 w glejaku stanowi obecnie intensywny obszar badań przedklinicznych. Dowiedziano, że w immunokompetentnych modelach myszy, komórki glejaka edytowane CRISPR pod kątem *miRNA-21* wykazywały zmniejszoną migrację, inwazję i proliferację, co skutkowało zwiększonym całkowitym przeżyciem. W 2023 roku przeprowadzono natomiast pierwszą na świecie terapię genową opartą na CRISPR (Casgevy) [76]. Obecnie trwają liczne badania kliniczne fazy I/II w zaawansowanych nowotworach przewodu pokarmowego, białaczki i chłoniaków. Głównym wyzwaniem jednak pozostają efekty „off-target” oraz przeprowadzenie CRISPR przez barierę krew-mózg, stąd konieczność opracowania zaawansowanych nanocząstek lub liposomów stabilizujących kompleks CRISPR-Cas9 w krwioobiegu ułatwiających penetrację do mózgu [77].

Tab.2a Zalety i wady strategii dostarczania *miRNA* do glejaka – rodzaje nośników

Rodzaj strategii	Zalety	Wady
Nanocząstki lipidowe (LNP) [92], [93]	<ul style="list-style-type: none"> Niska toksyczność Wysoka biokompatybilność Możliwość modyfikacji lipidów ligandami, np. przeciwciałami swoistymi, peptydami 	<ul style="list-style-type: none"> Stosunkowo niska stabilność nośnika Reagowanie ze składnikami krwi (np. albuminami) powodujące agregację lipidów Niska pojemność nośnika Wywoływanie odpowiedzi komórkowej, krótki czas obecności w organizmie
Nanocząstki polimerowe [94], [95]	<ul style="list-style-type: none"> Wysoka stabilność nośnika Zlokalizowane uwalnianie <i>miRNA</i> Bardzo łatwa modyfikacja polimeru ligandami, np. przeciwciałami swoistymi, peptydami 	<ul style="list-style-type: none"> Pojemność nośnika zależna od stopnia rozgałęzienia i długości polimeru, większe cząsteczki wykazują się toksycznością Stosunkowo droga synteza polimerów
Egzosomy [96], [97]	<ul style="list-style-type: none"> Wydajny mechanizm transportu międzykomórkowego Brak odpowiedzi immunologicznej oraz bardzo wysoka biokompatybilność Stosunkowo duża pojemność nośnika 	<ul style="list-style-type: none"> Trudności w masowej produkcji oraz zastosowaniu w terapii Duża heterogeniczność produktu Możliwość kumulowania się np. w wątrobie
CRISPR-Cas9 [98]	<ul style="list-style-type: none"> Zmiana poziomu ekspresji <i>miRNA</i> bezpośrednio w komórce Wysoka dokładność manipulacji aktywności <i>miRNA</i> Możliwość transportu systemu CRISPR-Cas9 do komórki na trzy sposoby: <ul style="list-style-type: none"> - z użyciem plazmidu zawierającego sekwencje kodujące sgRNA oraz białko Cas9 - poprzez osobny transport sgRNA i Cas9 mRNA w nośniku - poprzez transport całego systemu w nośniku 	<ul style="list-style-type: none"> Problemy wynikające z doboru metody transportu systemu CRISPR-Cas9 oraz rodzaju użytego nośnika Konieczność dokładnej znajomości locus genów kodujących dane <i>miRNA</i> oraz zaprojektowania sekwencji sgRNA Ryzyko wystąpienia błędów podczas modyfikacji genu lub uszkodzenia sąsiadującego innego genu
Wektory wirusowe [99], [100]	<ul style="list-style-type: none"> Szybkość oraz wysoka wydajność transferu <i>miRNA</i> Możliwość zaprojektowania wektora modyfikującego genom, pozwalając długoterminowo na syntezę <i>miRNA</i> przez komórki 	<ul style="list-style-type: none"> Wysoki koszt oraz trudność produkcji Wywoływanie odpowiedzi komórkowej Ryzyko niepożądanych mutacji
Peptyd R3V6 [101], [102]	<ul style="list-style-type: none"> Wysoka stabilność nośnika Wysoka biokompatybilność Prosta i tania synteza 	<ul style="list-style-type: none"> Niska wydajność dostarczania <i>miRNA</i> Wzrost toksyczności przy wysokich stężeniach

Kationowy Peptyd R3V6 (określany również jako r3V) stanowi następny przykład inteligentnego nośnika (wektora) dla *miRNA*, cechujący się wysoką penetracją przez błony komórkowe i wyższą skutecznością aniżeli nośniki tradycyjne. Peptyd ten najczęściej służy jako system dostarczania mimetyków lub antysensownych oligodeoksynukleotydów do wnętrza komórek nowotworowych [78]. Za przykład mogą służyć kompleksy oparte na R3V6 dostarczające anty-miR-21, co w modelach *in vitro* i *in vivo* (ksenogafty guza C6) powoduje zahamowanie wzrostu glejaka i indukowanie apoptozy. Platforma R3V6 badana jest pod kątem terapii raka płuc w systemie dostarczania supresorowych *miRNA* [79].

Reasumując, ciągle innowacje w systemach dostarczania, takie jak nanocząsteczki lipidowe, nosiciele polimerów, egzosomy, LNA i narzędzia do edycji genomu, pozostają kluczowe dla przezwyciężenia ograniczeń terapii opartych na *miRNA*. Technologie te nie tylko zwiększają stabilność, ukierunkowanie i biodostępność *miRNA*, ale także minimalizują skutki uboczne, co ostatecznie może wpłynąć na

skuteczność i translację kliniczną terapii p-nowotworowych opartych na *miRNA* (Ryciny 3 oraz 4) [80].

Porównanie strategii dostarczania *miRNA* do glejaka przedstawiono w Tabelach 2a oraz 2b.

BADANIA KLINICZNE I WYNIKI TERAPII *miRNA*

Terapie oparte na *miRNA* w badaniach klinicznych można ogólnie podzielić na dwie strategie: *miRNA* jako leki, które w dużej mierze odnoszą się do mimetyków *miRNA* w celu przywrócenia ekspresji *miRNA* supresyjnej dla guza oraz *miRNA* jako cele, które koncentrują się na inhibitorach *miRNA* lub różnych metodach hamujących (np. gąbki *miRNA*) w celu wyciszenia onkogenychnych *miRNA*.

Pierwszym produktem, który dotarł do pierwszej fazy badań klinicznych z udziałem ludzi był MRX34, syntetyczny odpowiednik ludzkiego *miRNA*-34, który działa hamująco na rozwój różnego typu nowotworów (rak wątroby, płuca, czerniak, chłoniak, zaawansowane guzy lite). Badanie to zostało przerwane z uwagi na wystąpienie u pięciu

pacjentów niebezpiecznych reakcji immunologicznych [81]. Podobny los spotkał również projekty, których idea związana była z blokowaniem wybranych cząsteczek *miRNA* i hamowaniem dzięki temu procesu chorobowego. Firma Regulus Therapeutics musiała przerwać rekrutację pacjentów z zespołem Alporta do zaplanowanego badania klinicznego z wykorzystaniem inhibitora *miRNA-21*. Cząsteczka ta uważana jest za jednego ze sprawców postępującego w chorobie Alporta włóknienia kłębuszków nerkowych i uszkodzenia cewek nerkowych, co finalnie prowadzi do niewydolności nerek. Niestety terapia hamująca aktywność *miRNA-21* prowadziła do niespodziewanych skutków toksycznych w modelach badawczych z udziałem gryzoni [82]. Podobnie stało się w przypadku kalifornijskiej firmy biotechnologicznej La Jolla, która próbowała wyciszyć ekspresję *miRNA-17*, odpowiedzialnego za progres genetycznie uwarunkowanej wielotorbielowatości nerek [83]. Z kolei koncern Regulus zmuszony był przerwać badania kliniczne pierwszej fazy nad terapią skierowaną przeciwko *miRNA-122* u osób zainfekowanych wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV), gdy u dwóch pacjentów wywołała ona żółtaczkę [84].

Opisane powyżej niepowodzenia wiążą się z dużymi stratami finansowymi dla firm biotechnologicznych prowadzących badania nad terapiami *miRNA*. W przypadku koncernu Regulus zdecydowały one na przykład o redukcji zatrudnienia osób zaangażowanych w ten projekt aż o 60 procent. Można się zatem spodziewać osłabienia zainteresowania innych podmiotów nad finansowaniem tego typu badań z uwagi na duże ryzyko porażki. Czy zatem przyszłość terapii *miRNA* stoi pod znakiem zapytania? [85].

Różnice w efektywności terapii *miRNA* obserwowane w badaniach przedklinicznych i klinicznych mogą wynikać przede wszystkim ze złożoności mikrośrodowiska i biologii guza, w tym: układu immunologicznego, naczyń krwionośnych i roli komórek glejowych. Warunki te trudno odzwierciedlić w środowisku sztucznym dla guza (*in vitro* i

in vivo), a w efekcie trudno ekstrapolować je do warunków klinicznych. Ponadto, różnice gatunkowe (modele mysie, szczurze) nie w pełni reprezentują patologię charakterystyczną dla komórek ludzkich, a wymuszony wzrost guza w modelach zwierzęcych i obecność surowicy w badaniach *in vitro* (zmieniającej profil *miRNA*) nie sprzyjają translacyjnej roli niniejszych badań [86].

OGRANICZENIA TERAPII I EFEKTY „OFF-TARGET” *miRNA*

Nieprzewidywalne, a nierzadko toksyczne rezultaty terapii *miRNA* oraz efekty poza celem *miRNA* („off-target”) wynikają prawdopodobnie z tego, że cząsteczki te nie pełnią tylko jednej, ściśle określonej funkcji, a uczestniczą w regulacji sieci wzajemnych powiązań w ekspresji poszczególnych genów [87]. Na początku jednak cecha ta była postrzegana jako największy atut takiej terapii, szczególnie w leczeniu chorób o złożonym podłożu, w których w przeciwieństwie do dysfunkcji pojedynczego genu rozregulowaniu ulega układ ekspresji wielu z nich. Być może wciąż zbyt mało wiadomo o wszystkich elementach zaangażowanych w regulację *miRNA*. Efekty „off-target” mogą mieć aspekt związany z mechanizmem (działanie mało-specyficzne) oraz konsekwencjami (w których tłumienie niezamierzonych genów indukuje efekty toksyczne). Zrozumienie oraz minimalizacja powyższych efektów jest kluczowa w badaniach nad rolą *miRNA* w terapii [88].

WYZWANIA DLA TERAPII OPARTEJ NA *miRNA*

Pomimo równoczesnych nadziei jak i niepowodzeń dotyczących wykorzystania *miRNA* w terapii onkologicznej wciąż widzi się w niej wielki potencjał. Nadzieje te upatrywane są w rozwiązaniach mających na celu wyciszenie określonych *miRNA* w zmienionych komórkach. Najważniejszym problemem do rozwiązania jest natomiast sposób dostarczania, by nie powodować efektów również w

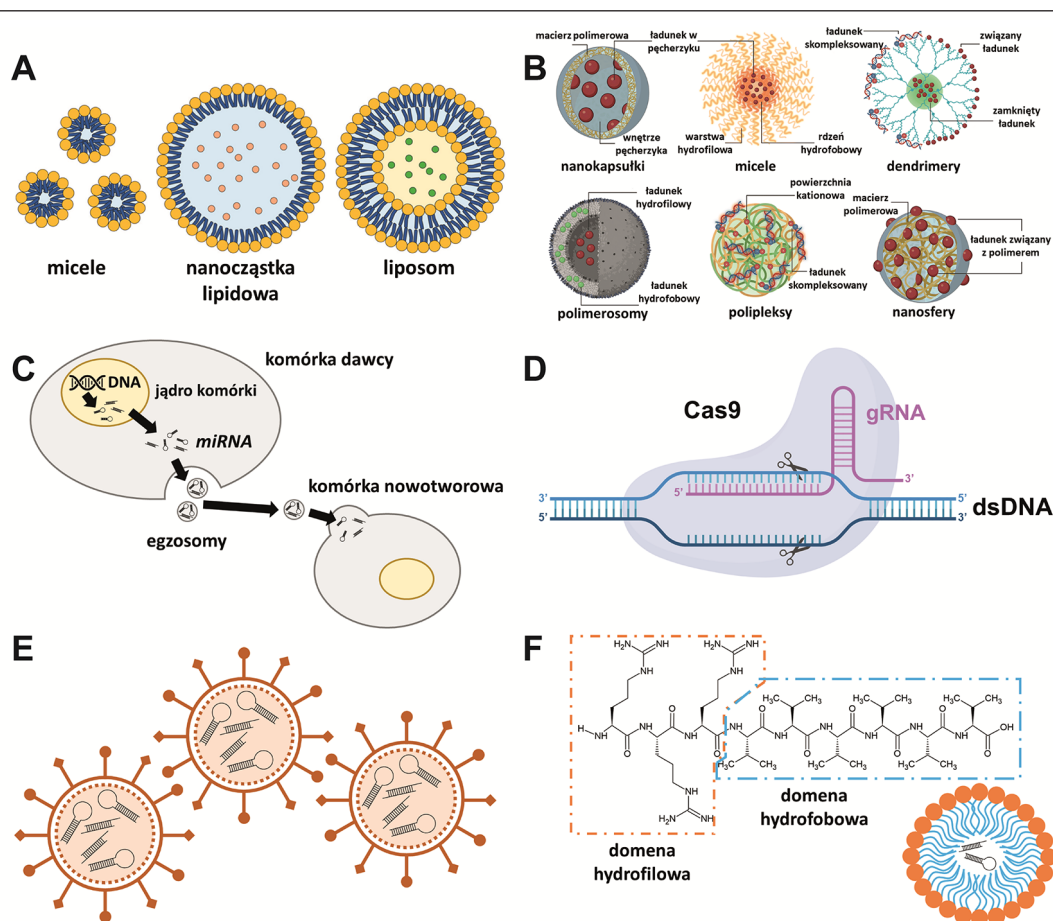
Tab.2b Zalety i wady strategii dostarczania *miRNA* do glejaka – rodzaje kwasów nukleinowych

Rodzaj strategii	Cechy charakterystyczne	Wady
Gąbki <i>miRNA</i>	<ul style="list-style-type: none"> Jednoczesne wiązanie wielu cząsteczek <i>miRNA</i> jednocześnie Możliwość umieszczenia różnych sekwencji komplementarnych pozwalających na wychwytywanie więcej niż jednego rodzaju <i>miRNA</i> Możliwość selekcji traktowanych komórek poprzez dodanie otwartych ramek odczytu dla genów reporterowych 	<ul style="list-style-type: none"> Utrudniony transport do komórki ze względu na duży rozmiar cząsteczki Duża trudność w projektowaniu sekwencji, np. ryzyko niepoprawnego fałdowania RNA Ryzyko wystąpienia skutków ubocznych
„Locked nucleic acids” (LNAs)	<ul style="list-style-type: none"> Niewrażliwość na degradację przez nukleazy, zwiększona stabilność cząsteczki Zwiększone powinowactwo (do docelowego <i>miRNA</i>) w porównaniu do niezmodyfikowanego RNA 	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększona odpowiedź immunologiczna w wyniku modyfikacji
Mimetyki <i>miRNA</i>	<ul style="list-style-type: none"> Przywracanie funkcji antynowotworowych dezaktywowanemu <i>miRNA</i> Wzmacnianie efektu działania celowanego <i>miRNA</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Ryzyko niepożądanego wiązania z innymi sekwencjami oraz w konsekwencji skutków ubocznych Możliwość zmniejszenia ekspresji genów będących częścią innych ścieżek sygnałowych
Antagoniści <i>miRNA</i>	<ul style="list-style-type: none"> Blokowanie aktywności onkogenicznego <i>miRNA</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Ryzyko niepożądanego wiązania z innymi sekwencjami oraz w konsekwencji skutków ubocznych Możliwość zwiększenia ekspresji onkogenicznego <i>miRNA</i>

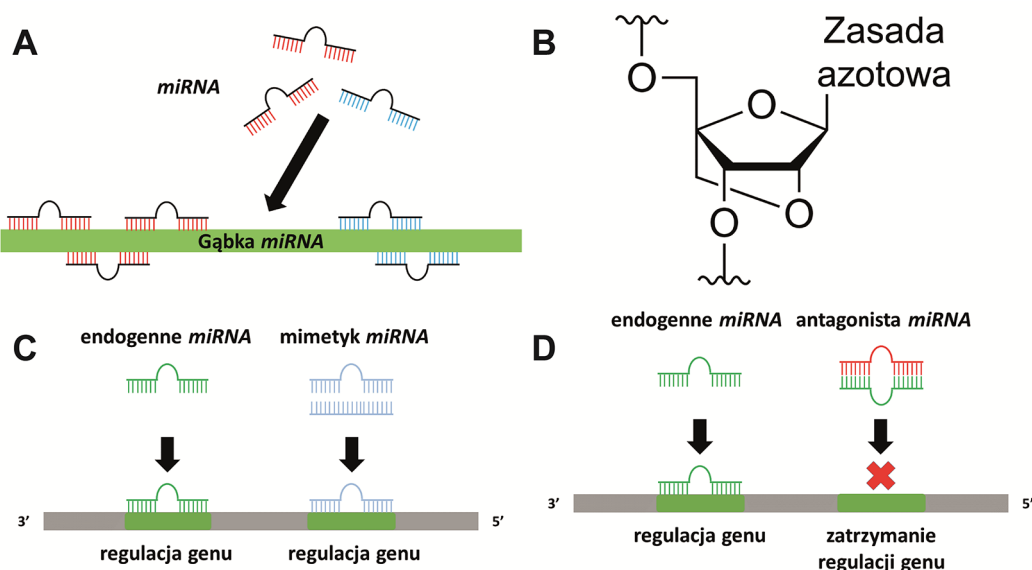
komórkach niedocelowych. Ponadto istotne jest poznanie wszystkich możliwych funkcji zidentyfikowanych ludzkich *miRNA*, a także zmian w ich ekspresji w poszczególnych chorobach. Z każdym tygodniem wiemy w tym względzie coraz więcej – tylko w 2017 r. opublikowano niemal 9 tys. prac naukowych poświęconych tym zagadnieniom. Czy w niedległej przyszłości uda nam się przejąć pałeczkę tych molekularnych dyrygentów? Czas pokaże [89].

Leczenie skoncentrowane na *miRNA* może stanowić nowy punkt wyjścia do poprawy przeżywalności i jakości życia pacjentów z GBM. Z uwagi na duży potencjał obserwowany w *miRNA* jako biomarkerów klinicznych, kluczowe są dalsze badania, które powinny być szczególnie skoncentrowane na badaniach z udziałem pacjentów aniżeli na badaniach przedklinicznych. Wyniki uzyskane w eksperymentalnych modelach *in vitro* i *in vivo* często bowiem nie przekładają się na konkretne znaczenie kliniczne z uwagi na heterogenność guzów. *miRNA* nie powinny być także analizowane jako pojedyncza jednostka, zamiast tego należy położyć większy nacisk na ich działanie jako grup paneli *miRNA*, które współpracują w odpowiedzi na terapię i prognozowanie GBM. Konieczna jest także walidacja przeprowadzona w dużych kohortach klinicznych, standaryzacja metod pomiaru oraz normalizacja (np. wewnętrzne kontrole) [90].

Ryc. 3 podsumowuje drogę *miRNA* od badań przedklinicznych do zastosowania w klinice [138].



Rycina 3. Rodzaje nośników oraz metod stosowanych w celu dostarczania *miRNA*. A – nanocząstki lipidowe (LNP), B – nanocząstki polimerowe, C – egzosomy, D – system CRISPR-Cas9, E – wektory wirusowe, F – peptyd R3V6



Rycina 4. Rodzaje kwasów nukleinowych dostarczanych w ramach terapii *miRNA*. A – gąbki *miRNA*, B – „locked nucleic acid” (LNA), C – mimetyki *miRNA*, D – antagoniści *miRNA*

PODSUMOWANIE

Glejaki są najbardziej agresywnym typem pierwotnych guzów mózgu. Pomimo dotychczasowych osiągnięć współczesnej medycyny, rokowania dla pacjentów z GBM pozostają jednak niezadowolające. Obecne strategie leczenia tych guzów opierają się na resekcji cytotredukcyjnej oraz radio- i chemioterapii, jednak żadna z tych metod, stosowana samodzielnie lub w skojarzeniu, nie jest uważana za skuteczną w kontrolowaniu choroby. Powoduje to, że maksymalna długość życia pacjentów od momentu diagnozy nie zmienia się od kilkunastu lat i wciąż nie przekracza 15 miesięcy. W związku z tym, terminowa diagnoza i prognozowanie wyników glejaka nie traci na znaczeniu. Koncepcja biomarkerów molekularnych podlega dynamicznemu rozwojowi w ostatniej dekadzie, a ich zastosowanie może przyczynić się do lepszego zrozumienia patogenezы glejaków, sprzyjąc ich wczesnemu wykrywaniu, stratyfikacji ryzyka nawrotu, kontroli miejscowej, terminowej korekcie strategii leczenia, a w konsekwencji sprzyjąc korzystniejszemu rokowaniu [91]. Chociaż *miRNA* obecnie nie są jeszcze stosowane w praktyce klinicznej z uwagi na brak normalizacji metod pobrania i liczbę kohort, postęp w tej dziedzinie wskazuje, że krążące *miRNA* oraz profilowanie *miRNA* mogą mieć kluczowe znaczenie dla postępu nowoczesnej diagnostyki onkologicznej, przewidywania odpowiedzi na leczenie, monitorowania postępu choroby, a w końcu opracowania terapii personalizowanej.

PIŚMIENNICTWO

- Schaff LR, Mellingshoff IK (2023) Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. *JAMA* 329(7): 574–587
- Wen PY, Weller M, Lee EQ, Alexander BM, Barnholtz-Sloan JS, Barthel FP, Batchelor TT, Bindra RS, Chang SM, Chiocca EA (2020) Glioblastoma in adults: A Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions. *Neuro-Oncology* 22(8): 1073–1113
- Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Pfister SM, Reifenberger G (2021) WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Neuro-Oncology* 23(8): 1231–1251
- Ostrom QT, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS (2021) Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014–2018. *Neuro-Oncology* 5(23): 1-105
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352(10): 987–996
- Vijapura C, Saad Aldin E, Capizzano AA, Policeni B, Sato Y, Moritani T (2017) Genetic Syndromes Associated with Central Nervous System Tumors. *Radiographics* 37(1): 258–280
- Jonsson P, Lin AL, Young RJ, Di Stefano NM, Hyman DM, Li BT, Berger MF, Zehir A, Ladanyi M, Solit DB (2019) Genomic Correlates of Disease Progression and Treatment Response in Prospectively Characterized Gliomas. *Clin Cancer Res* 25(18): 5537–5547
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352(10): 987–996

- Rajakaruna P, Rios S, Elnahas H, Villanueva A, Uribe D, Leslie F, Abbas W, Barroso L, Oyervides S, Persans M, Whitehouse W, Keniry M (2025) Emerging biomarkers for early cancer detection and diagnosis. *Mol Biom Biomed* 13:1298
10. Suvarnapathaki S, Serrano-Farias A, Dudley AJ, Bettegowda C, Rincon-Torroella J (2024) Unlocking the Potential of Circulating *miRNAs* as Biomarkers in Glioblastoma. *Life* 14(10): 1312
- Kay MA (2024) Ruvkun and Ambros recognized for *miRNA*. *Mol. Ther. Nucleic Acids* 2035(4): 102379
- Ouellet DL, Perron MP, Gobeil LA, Plante P, Provost P (2006) MicroRNAs in gene regulation: When the smallest governs it all. *J Biomed Biotechnol* 2006: 1-20
- Ha M, Kim VN (2014) Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15(8): 509–524
- Behrooz AB, Latifi-Navid H, Nezhadi A, Świat M, Los M, Jamalpoor Z, Ghavami S (2023) Molecular mechanisms of microRNAs in glioblastoma pathogenesis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1870(6): 119482
- Hasan H, Afzal M, Castresana JS, Shahi MHA (2023) Comprehensive Review of *miRNAs* and Their Epigenetic Effects in Glioblastoma. *Cells* 12(12): 1578
- Sempere LF, Azmi AS, Moore A (2021) MicroRNA-based diagnostic and therapeutic applications in cancer medicine. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 12(6): 1662
- Uzuner E, Ulu GT, Gürlür SB, Baran Y (2022) The Role of *miRNA* in Cancer: Pathogenesis Diagnosis and Treatment. *Methods Mol Biol* 2257: 375–422
- Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA (2007) MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 302(1): 1–12
- Rezaei O, Honarmand K, Nateghinia S, Taheri M, Ghafouri-Fard S (2020) *MiRNA* signature in glioblastoma: Potential biomarkers and therapeutic targets. *Exp Mol Pathol* 117: 104550
- Zheng Q, Hou W (2021) Regulation of angiogenesis by microRNAs in cancer. *Mol Med Rep* 24(2): 583
- Makowska M, Smolarz B, Romanowicz H (2023) MicroRNAs (*miRNAs*) in Glioblastoma Multiforme (GBM)-Recent Literature Review. *Int J Mol Sci* 24(4): 3521
- Barciszewska AM (2016) MicroRNAs as efficient biomarkers in high-grade gliomas. *Folia Neuropathol* 54(4): 369–374
- Yuan GQ, Wei NL, Mu LY, Wang XQ, Zhang YN, Zhou WN, Pan YWA (2017) *MiRNAs* signature predicts survival in glioblastoma multiforme patients. *Cancer Biomark Sect A Dis Markers* 20(4): 443–452
- Evers L, Schäfer A, Pini R, Zhao K, Stei S, Nimsy C, Bartsch JW (2023) Identification of Dysregulated microRNAs in Glioblastoma Stem-like Cells. *Brain Sci* 13(2): 350
- Behrooz AB, Latifi-Navid H, Nezhadi A, Świat M, Los M, Jamalpoor Z, Ghavami S (2023) Molecular mechanisms of microRNAs in glioblastoma pathogenesis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1870(6): 119482
- Regazzo G, Terrenato I, Spagnuolo M, Carosi M, Cognetti G, Cicchilitti L, Sperati F, Villani V, Carapella C, Piaggio G (2016) A restricted signature of serum *miRNAs* distinguishes glioblastoma from lower grade gliomas. *J Exp Clin Cancer Res* 35(1): 124
- Shea A, Harish V, Afzal Z, Chijioko J, Kedir H, Dusmatova S, Roy A, Ramalinga M, Harris B, Blancato J (2016) MicroRNAs in glioblastoma multiforme pathogenesis and therapeutics. *Cancer Med* 5(8): 1917–1946
- Gabriely G, Yi M, Narayan RS, Niers JM, Wurdinger T, Imitola J, Ligon KL, Kesari S, Esau C, Stephens RM, Tannous BA, Krichevsky AM (2011) Human glioma growth is controlled by microRNA-10b. *Cancer Res* 71(10): 3563–3572
- Jiang G, Mu J, Lin X, Peng X, Zhong W, Denga F, Peng X, Zeng X (2020) Prognostic value of miR-21 in gliomas: comprehensive study based on meta-analysis and TCGA dataset validation. *Sci Rep* 10(1): 4220–429

30. Hashemi M, Mirdamadi MSA, Talebi Y, Khaniabad N, Banaei G, Deneii P, Gholami S, Ghorbani A, Zarrabi A, Nabavi N, Rashidieo M, Taheriazam A, Entezari M, Khan H (2023) Pre-clinical and clinical importance of miR-21 in human cancers: Tumorigenesis therapy response delivery approaches and targeting agents. *Pharmacol Res* 187: 106568
31. Banelli B, Forlani A, Allemanni G, Morabito A, Pistillo MP, Romani M (2017) MicroRNA in glioblastoma: An overview. *Int J Genomics* 2017: 7639084
32. Toraih EA, El-Wazir A, Abdallah HY, Tantawy MA, Fawzy MS (2019) Deregulated microRNA signature following glioblastoma irradiation. *Cancer Control* 26(1): 1073274819847226
33. Laghari A, Suchal ZA, Avani R, Khan DA, Kabani AS, Nouman M (2022) Prognostic potential of microRNAs in glioma patients: a meta-analysis. *ASJO* 8(2): 92-103
34. Ohno M, Matsuzaki J, Kawauchi J, Aoki Y, Miura J, Takizawa S (2019) Assessment of the diagnostic utility of serum MicroRNA classification in patients with diffuse glioma. *JAMA Netw Open* 2(12): 1916953
35. Srinivasan S, Patric I R, Somasundaram KA (2011) Ten-microRNA expression signature predicts survival in glioblastoma. *PLoS ONE* 6(3): 17438
36. Ma R, Zheng G, Shang C, Ly H (2018) Downregulation of miR-196b Promotes Glioma Cell Sensitivity to Temozolomide Chemotherapy and Radiotherapy. *Ann Clin Lab Sci* 48(6): 719-725
37. Wang H, Ren H, Xu Y, Miag W, Ou Z, Liu X, Kong X (2019) MicroRNA-195 reverses the resistance to temozolomide through targeting cyclin E1 in glioma cells. *Anticancer Drugs* 30(1): 81-88
38. Zhanga K, Yu J, Zhao C, Huifang R, Yuan Z, Zhang B, Wang J, Feng B (2019) MiR-181b-5p modulates chemosensitivity of glioma cells to temozolomide by targeting Bcl-2. *Biomed Pharmather* 109: 2192-2202
39. Lakomy R, Sana J, Hankeova S (2011) MiR-195 miR-196b miR-181c miR-21 expression levels and O-6-methylguanine-DNA methyltransferase methylation status are associated with clinical outcome in glioblastoma patients. *Cancer Sci* 102(12): 2186-2190
40. Li Y, Zhao S, Zhen Y, Li Q, Teng L, Asai A, Kawamoto K (2011) A miR-21 inhibitor enhances apoptosis and reduces G2-M accumulation induced by ionizing radiation in human glioblastoma U251 cells. *Brain Tumor Pathol* 28(3): 209-21
41. Olioso D, Caccese M, Santangelo A, Lippi H, Zagonei V, Cabrini G, Lombardi G, Dechecchi MC (2021) Serum Exosomal microRNA-21, 222 and 124-3p as noninvasive predictive bio-markers in newly diagnosed high-grade gliomas: a prospective study. *Cancers (Basel)* 13(12): 3006
42. Gwak HS, Kim TH, Jo GH, Ja Kim Y, Yin J, Yoo H, Hoon Lee S, Jong B P (2012) Silencing of microRNA-21 confers radio-sensitivity through inhibition of the PI3K/AKT pathway and enhancing autophagy in malignant glioma cell lines. *PLoS One* 7(10): 47449
43. Wong ST, Zhang XQ, Zhuang JTF, Chan HL, Li CH, Leung GKK (2012) MicroRNA-21 inhibition enhances *in vitro* chemo-sensitivity of temozolomide-resistant glioblastoma cells. *Anticancer Res* 32(7): 2835-2841
44. Shi L, Chen JA, Yang JA, Pan TH, Zhang SG, Wang ZM (2010) MiR-21 protected human glioblastoma U87MG cells from chemotherapeutic drug temozolomide induced apoptosis by decreasing Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 activity. *Brain Res* 1352: 255-264
45. Griveau A, Bejaud J, Anthoni S, Avril S, Autret D, Garcion E (2013) Silencing of miR-21 by locked nucleic acid-lipid nanocapsule complexes sensitize human glioblastoma cells to radiation-induced cell death. *Int J Pharm* 454(2): 765-774
46. Ananta JS, Paulmurugan R, Massoud TF (2015) Nanoparticle-delivered antisense MicroRNA-21 enhances the effects of temozolomide on glioblastoma cells. *Mol Pharm* 12(12): 4509-4517
47. Rodrigues AR, Neto FSL, Lourenço LG, Trevisa FA, Cirino ML, Peria FM, Pereira da Silva G, Tazima MF, Torapelli LF, Tiezzi G, Carlotti J, Tirapelli DP (2019) Expression of oncogenic microRNA-21 in neurospheres and attached cells *Genet Mol Res* 18(2): 18095
48. Kofman A, Marcinkiewicz L, Dupart E, Lyshevch A, Martynov B, Ryndin A, Kotelevskaya E, Brown J, Schiff D, Abounader R (2011) The roles of viruses in brain tumor initiation and oncomodulation. *JNO* 105(3): 451-466
49. Kim D, Kim H, Seo Y, Yang H, Marcusson E, Lee K, Lee H, Nam H (2016) Anti-miR delivery strategies to bypass the blood-brain barrier in glioblastoma therapy. *Oncotarget* 7(20): 29400-29411
50. Maus K, Jansen F, Rabiul Hosen M (2023) Targeting microRNA-10 in glioma; a focus with potential therapeutic application in genome editing. *MTNA* 32: 504-506
51. Maus K, Jansen F, Hosen M (2023) Anti-cancer effect of R3V6 peptide-mediated delivery of an anti-microRNA-21 antisense-oligodeoxynucleotide in a glioblastoma animal model. *J Drug Target* 25(2): 132-139
52. Chen L, Zhang K, Shi Z, Zhang A, Jia Z, Wang G, Pu P, Kang C, Han L (2014) A lentivirus-mediated miR-23b sponge diminishes the malignant phenotype of glioma cells *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Rep* 31(4): 1573-1580
53. Ordonez-Rubiano E, Arias N, Espinosa S, Shelton W, Salazar A, Combata A, Baldoncini M, Luzzi M, Gomez C, Amarillo D, Hakim F, Medina R (2024) The potential of *miRNA*-based approaches in glioblastoma: An update in current advances and future perspectives. *Curr Res Pharmacol Drug Discov* 7: 100193
54. Yang CH, Wang Y, Sims M, Cai C, He P, Yue J, Cheng J, Frederick A, Pfeffer S R, Lawrence M (2016) *MIRNA203* suppresses the expression of protumorigenic *STAT1* in glioblastoma to inhibit tumorigenesis. *Oncotarget* 7(51): 84017-84029
55. Valle-Garcia D, Pérez de la Cruz V, Flores I, Salazar I, Pineda B, Meza-Sosa KF (2024) Use of microRNAs as Diagnostic Prognostic and Therapeutic Tools for Glioblastoma. *Int J Mol Sci* 25(5): 2464
56. Maksoud S (2021) The role of the ubiquitin proteasome system in glioma: analysis emphasizing the main molecular players and therapeutic strategies identified in glioblastoma multiforme. *Mol Neurobiol* 58(7): 3252-3269
57. Mirzaei S, Khaksary Mahabady M, Zabolian A, Abbaspour A, Falahzadeh P, Noori M, Hashemi F, Hushmandi K, Daneshi S, Prem Kumar A, Reza Aref A, Samarghandian S, Makvandi P, Khan H, Hamblin MR, Ashrafizadeh M, Zarrab A, (2021) Small interfering RNA (siRNA) to target genes and molecular pathways in glioblastoma therapy: Current status with an emphasis on delivery systems Small interfering RNA (siRNA) to target genes and molecular pathways in glioblastoma therapy. *Life Sci* 275: 119368
58. Pourrahimi M, Hesari M, Houshmandpour H, Mirzaee O, Torki E, Kouchaki H, Tabrizi R, Ghasemian A, Barbaresi S (2025) Inducer microRNAs in the glioma development: a concise review of mechanisms and insights into targeted therapy. *JENCI*: 37: 55
59. Lou W, Liu J, Gao Y, Zhong G, Chen D, Shen J, Bao C, Xu L, Pan J, Cheng J, Ding B, Fan W (2017) MicroRNAs in cancer metastasis and angiogenesis. *Oncotarget* 8(70): 115787-115802
60. Kentaro G, Inoue I, Ishihara H, Kojima K, Inazawa J (2020) Therapeutic Potential of LNP-Mediated Delivery of miR-634 for Cancer Therapy. *Mol Ther* 19: 330-338
61. Chen M, Medarova Z, Moore A (2021) Role of microRNAs in glioblastoma. *Oncotarget* 12(17): 1707-1723
62. Bouzari B, Shabahang M, Bokov D, Krasnyuk C, Hosseini-Fard R, Hajibaba M, Mirzaei R, Karampoor S (2022) Angioregulatory role of *miRNAs* and exosomal *miRNAs* in glioblastoma pathogenesis. Angioregulatory role of *miRNAs* and exosomal *miRNAs* in glioblastoma pathogenesis. *Biomed Pharmacother* 148: 112760
63. Dong L, Han C, Zhang H, Gu X, Li J, Wu Y, Wang X (2012) Construction of a recombinant lentivirus containing human microRNA-7-3 and its inhibitory effects on glioma proliferation. *Neural Regen Res* 7(27): 2144-2150
64. Tului O, Al-Maadhadhi M, Al-Khulaifi AA, Akomolafe AF, Shaikha Y, Kuwari A, Al-Khayarin A, Maccalli A, Pedersen S (2023) Exploring the Role of microRNAs in Glioma Progression. Prognosis and Therapeutic Strategies. *Cancers* 5(17): 4213

65. Chen L, Zhang K, Shi Z, Zhang A, Jia Z, Wang G, Pu P, Kang C, Han LA (2014) lentivirus-mediated miR-23b sponge diminishes the malignant phenotype of glioma cells *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Rep* 31(4): 1573-1580
66. Buruiană A, Florian I, Florian A I, Timis T L, Mișu CM, Miclăuș M, Osan S, Hrapșa I, Cataniciu RC, Farcas M (2020) The Roles of *miRNA* in Glioblastoma Tumor Cell Communication: Diplomatic and Aggressive Negotiations. *Int J Mol Sci* 21(6): 1950
67. Géczi D, Klekner A, Balogh I, Penyige A, Szilágyi M, Virga J, Bakó A, Nagy B, Torner B, Birkó Z (2025) Identification of Deregulated *miRNAs* and *mRNAs* Involved in Tumorigenesis and Detection of Glioblastoma Patients Applying Next-Generation RNA Sequencing. *Pharmaceuticals* 18(3): 431
68. Song Z, Xue Z, Wang Y, Imran M, Assiri M, Fahad S (2024) Insights into the roles of non-coding RNAs and angiogenesis in glioblastoma: An overview of current research and future perspectives. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1868(4): 130567
69. Chen X, Yi B, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K (2008) Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 18(10): 997-1006
70. Mundalil Vasu M, Ayyappan A, Thanssem I, Suzuki K (2014) Serum microRNA profiles in children with autism. *Mol Autism* 5: 40
71. Xiao Y, Zhang L, Song Z, Guo G (2016) Potential diagnostic and prognostic value of plasma circulating microRNA-182 in human glioma. *Med Sci Monit* 22: 855-862
72. Pereira-da-Silva T, Coutinho Cruz M, Carrusca C, Cruz-Ferreira R (2018) Circulating microRNA profiles in different arterial territories of stable atherosclerotic disease: a systematic review. *Am J Cardiovasc Dis* 8(1): 1-13
73. Bayraktar R, Van Roosbroeck K, Calin GA (2017) Cell-to-cell communication: *miRNAs* as hormones. *Mol Oncol* 11: 1673-1686
74. Mori MA, Ludwig RG, Garcia-Martin R, Brandao BB, Kahn CR (2019) Extra cellular *miRNAs*: from biomarkers to mediators of physiology and disease. *Cell Metab* 30(4): 656-673
75. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C (2018) Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol* 9: 402
76. Ono S, Lam S, Nagahara M, Hoon DS (2015) Circulating microRNA biomarkers as liquid biopsy for cancer patients: pros and cons of current assays. *J Clin Med* 4(10): 1890-1907
77. D'Antonio F, Spinello Z, Bargiacchi L, Splendiani E (2025) Circulating microRNAs: a remarkable opportunity as non invasive biomarkers from adult to pediatric brain tumor patients. *Crit Rev Oncol Hematol* 208: 104650
78. Ianno MF, Biassoni V, Schiavello E, Careno A (2022) A microRNA prognostic signature in patients with diffuse intrinsic pontine gliomas through non-invasive liquid biopsy. *Cancers* 14(17): 4307
79. Jha P, Agrawal R, Pathak P, Kumar A (2015) Genome-wide small noncoding RNA profiling of pediatric high-grade gliomas reveals deregulation of several *miRNAs*, identifies downregulation of snRNA cluster HBII-52 and delineates H3F3A and TP53 mutant-specific *miRNAs* and snRNAs. *Int J Cancer* 137(10): 2343-2353
80. Bax DA, Little SE, Gaspar N, Peryman L (2009) Molecular and phenotypic characterisation of paediatric glioma cell lines as models for preclinical drug development. *PLoS ONE* 4(4): 5209
81. Becker AP, Scapulatempo-Neto C, Carloni AC, Paulino A (2015) K11549: braf gene fusion and Fgfr1 hotspot mutations are prognostic factors in pilocytic astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 74(7): 743-754
82. Sturm D, Pfister SM, Jones DTW (2017) Pediatric gliomas: current concepts on diagnosis, biology, and clinical management. *J Clin Oncol* 35(21): 2370-2377
83. Segura MF, Hanniford D, Menendez S, Reavie L (2009) Aberrant miR-182 expression promotes melanoma metastasis by repressing FOXO3 and microphthalmia-associated transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(6): 1814-1819
84. Li P, Sheng C, Huang L, Zhang H (2014) Mir-183/-96/-182 cluster is up-regulated in most breast cancers and increases cell proliferation and migration. *Breast Cancer Res* 16(6): 473
85. Liu R, Li J, Teng Z, Zhang Z, Xu Y (2013) Overexpressed microRNA-182 promotes proliferation and invasion in prostate cancer PC-3 cells by down-regulating N-Myc downstream regulated gene 1 (NdrG1). *PLoS ONE* 8(7): 68982
86. Sameti P, Tohidast M, Amini M, Mahdavi S (2023) The emerging role of microRNA-182 in tumorigenesis; a promising therapeutic target. *Cancer Cell Int* 23(1): 134
87. Weeraratne SD, Amani V, Teider N, Pierre-Francois J (2012) Pleiotropic effects of Mir-183-96-182 converge to regulate cell survival, proliferation and migration in medulloblastoma. *Acta Neuropathol* 123(4): 539-552
88. Kouri FM, Hurler LA, Weston DL, Day ES (2015) Mir-182 integrates apoptosis, growth, and differentiation programs in glioblastoma. *Genes Dev* 29(7): 732-745
89. Zhang S, Lai N, Liao K, Sun J, Lin Y (2015) MicroRNA-210 Regulates Cell Proliferation and Apoptosis by Targeting Regulator of Differentiation 1 in Glioblastoma Cells. *Folia Neuropathol* 53(3): 236-244
90. Li Y, Wu Y, Sun Z, Wang R, Ma D (2018) MicroRNA-376a Inhibits Cell Proliferation and Invasion in Glioblastoma Multiforme by Directly Targeting Specificity Protein 1. *Mol Med Rep* 17(1): 1583-1590
91. Deng YW, Shu YG, Sun SL (2022) miR-376a Inhibits Glioma Proliferation and Angiogenesis by Regulating YAP1/VEGF Signalling via Targeting of SIRT1. *Transl Oncol* 15(1): 101270
92. Mafi A, Mannani R, Khalilollah S, Hedayati N, Salami R, Rezaee M, Dehmordi R, Ghorbanhosseini SS, Alimohammadi M, Akhavan-Sigari R (2023) The Significant Role of microRNAs in Gliomas Angiogenesis: A Particular Focus on Molecular Mechanisms and Opportunities for Clinical Application. *Cell Mol Neurobiol* 43(7): 3277-3299
93. Wu N, Lin X, Zhao X, Zheng L, Xiao L, Liu J, Ge L, Cao S (2013) miR-125b Acts as an Oncogene in Glioblastoma Cells and Inhibits Cell Apoptosis through P53 and p38MAPK-Independent Pathways. *Br J Cancer* 109(11): 2853-2863
94. Jin Z, Xu S, Yu H, Yang B, Zhao H, Zhao G (2013) miR-125b Inhibits Connexin43 and Promotes Glioma Growth. *Cell Mol Neurobiol* 33(8): 1143-1148
95. Wu N, Xiao L, Zhao X, Zhao J, Wang J, Wang F, Cao S, Lin X (2012) miR-125b Regulates the Proliferation of Glioblastoma Stem Cells by Targeting E2F2. *FEBS Lett* 586(21): 3831-3839
96. Wenfu Z, Bin L, Binchan R, Jingling L, Zhenchang W, Zhengdi W, Lei Y (2024) DNA Methylation-Mediated Repression of microRNA-410 Promotes the Growth of Human Glioma Cells and Triggers Cell Apoptosis through Its Interaction with STAT3. *Sci Rep* 14: 1556
97. Wang J, Yang Y, Cao Y, Tang X (2019) miR-342 Inhibits Glioma Cell Proliferation by Targeting GPRC5A. *Mol Med Rep* 20(1): 252-260
98. Liu S, Liu H, Deng M, Wang H (2020) miR-182 Promotes Glioma Progression by Targeting FBXW7. *J Neurol Sci* 411: 116689
99. Liu Y, Jiang K, Zhi T, Xu X (2021) miR-720 Is a Key Regulator of Glioma Migration and Invasion by Controlling TARSL2 Expression. *Hum Cell* 34(5): 1504-1516
100. Yue X, Wang P, Xu J, Zhu Y, Sun G, Pang Q, Tao R (2012) MicroRNA-205 Functions as a Tumor Suppressor in Human Glioblastoma Cells by Targeting VEGF-A. *Oncol Rep* 27(4): 1200-1206
101. Liao H, Bai Y, Qiu S, Zheng L, Huang L, Liu T, Wang X, Liu Y, Xu N, Yan X (2015) miR-203 Downregulation Is Responsible for Chemoresistance in Human Glioblastoma by Promoting Epithelial-Mesenchymal Transition via SNAI2. *Oncotarget* 6(11): 8914-8928
102. Shi L, Wang Z, Sun G, Wan Y, Guo J, Fu X (2014) miR-145 Inhibits Migration and Invasion of Glioma Stem Cells by Targeting ABCG2. *Neuro Molecular Med* 16(2): 517-528
103. Chen Z, Qin Y (2025) Role of *miRNA-145-5p* in Cancer (Review). *Oncol Rep* 53(3): 39
104. Zhong Q, Wang T, Lu P, Zhang R, Zou J, Yuan S (2014) miR-193b Promotes Cell Proliferation by Targeting Smad3 in Human Glioma. *J Neurosci Res* 92(5): 619-626

105. Li Q, Liu J, Meng X, Pang R, Li J (2017) MicroRNA-454 May Function as an Oncogene via Targeting AKT in Triple Negative Breast Cancer. *J Biol Res Thessalon* 24: 10
106. D'Urso PI, D'Urso OF, Storelli C, Mallardo M, Gianfreda CD, Montinaro A, Cimmino A, Pietro C, Marsigliante S (2012) miR-155 Is up-Regulated in Primary and Secondary Glioblastoma and Promotes Tumour Growth by Inhibiting GABA Receptors. *Int J Oncol* 41(1): 228-234
107. Wu D, Wang C (2020) miR-155 Regulates the Proliferation of Glioma Cells Through PI3K/AKT Signaling. *Front Neurol* 11: 297
108. Zhang W, Jiang B, Zhu H, Cheng A, Li C, Huang H, Li X, Kuang Y (2023) miR-33b in Human Cancer: Mechanistic and Clinical Perspectives. *Biomed Pharmacother* 161: 114432
109. Chen O, Wang W, Chen S, Chen X, Lin Y (2021) miR-29a Sensitizes the Response of Glioma Cells to Temozolomide by Modulating the P53/MDM2 Feedback Loop. *Cell Mol Biol Lett* 26(1): 21
110. Xiao S, Yang Z, Qiu X, Lv R, Liu J, Wu M, Liao Y, Liu Q (2016) miR-29c Contribute to Glioma Cells Temozolomide Sensitivity by Targeting O6-Methylguanine-DNA Methyltransferases Indirectly. *Oncotarget* 7(31): 50229-50238
111. Chen G, Zhu W, Shi D, Lv L, Zhang C, Liu P, Hu W (2010) MicroRNA-181a Sensitizes Human Malignant Glioma U87MG Cells to Radiation by Targeting Bcl-2. *Oncol Rep* 23(4): 997-1003
112. Chakraborty A, Patton DJ, Smith BF, Agarwal P (2023) *miRNAs*: Potential as Biomarkers and Therapeutic Targets for Cancer. *Genes* 14(7): 1375
113. Metcalf GAD (2024) MicroRNAs: Circulating Biomarkers for the Early Detection of Imperceptible Cancers via Biosensor and Machine-Learning Advances. *Oncogene* 43: 2135-2142
114. Terzapulo X, Dyussupova A, Ilyas A, Boranova A, Shevchenko Y, Mergenbayeva S, Filchakova O, Gaipov A, Bukasov R (2025) Detection of Cancer Biomarkers: Review of Methods and Applications Reported from Analytical Perspective. *Crit Rev Anal Chem* 14: 1-46
115. Mumford SL, Towler BP, Pashler AL, Gilleard O, Martin Y, Newbury SF (2018) Circulating MicroRNA Biomarkers in Melanoma: Tools and Challenges in Personalised Medicine. *Biomolecules* 8(2): 21
116. Petracci I, Bellini S, Goljanek-Whysall K, Quinlan LR, Fiszer A, Cakmak A, Njume CM, Borroni B, Ghidoni R (2025) Exploring the Role of microRNAs as Blood Biomarkers in Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. *Int J Mol Sci* 26(7): 3399
117. Searles CD (2024) MicroRNAs and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep* 26(2): 51-60
118. Ma C, Nguyen H, Luwor R, Stylli S, Gogos A, Paradiso L, Kaye A, Morokoff AA (2018) Comprehensive Meta-Analysis of Circulation *miRNAs* in Glioma as Potential Diagnostic Biomarker. *PLoS ONE* 13(2): 189452
119. Zhou Q, Liu J, Quan J, Liu W, Tan H, Li W (2018) MicroRNAs as Potential Biomarkers for the Diagnosis of Glioma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancer Sci* 109(9): 2651-2659
120. He J, Jiang Y, Liu L, Zuo Z, Zeng C (2020) Circulating MicroRNAs as Promising Diagnostic Biomarkers for Patients With Glioma: A Meta-Analysis. *Front Neurol* 11: 610163
121. Hasani F, Masrouf M, Jazi K, Ahmadi P, Hosseini SS, Lu VM, Alborzi A (2024) MicroRNA as a Potential Diagnostic and Prognostic Biomarker in Brain Gliomas: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol* 15: 1357321
122. Kanderi T, Munakomi S, Gupta V (2025) Glioblastoma Multiforme. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island FL USA
123. Denli AM, Tops BBJ, Plasterk RHA, Ketting RF, Hannon GJ (2004) Processing of Primary microRNAs by the Microprocessor Complex. *Nature* 432(7014): 231-235
124. Chawra HS, Agarwal M, Mishra A, Chandel SS, Singh RP, Dubey G, Kukreti N, Singh M (2024) MicroRNA-21's Role in Suppression and PI3K/AKT Activation: Implications for Cancer Biology. *Pathol Res Pract* 254: 15509
125. Martino MT, Tagliaferri P, Tassone P (2025) MicroRNA in cancer therapy: breakthroughs and challenges in early clinical applications. *J Exp Clin Cancer Res* 44(1): 126
126. Grafals-Ruiz N, Rios-Vicil CI, Lozada-Delgado EL, Quiñones-Díaz B I, Noriega-Rivera RA, Martínez-Zayas G, Santana-Rivera Y, Santiago-Sánchez GS, Valiyeva F, Vivas-Mejía PE (2020) Brain Targeted Gold Liposomes Improve RNAi Delivery for Glioblastoma. *Int J Nanomed* 15: 2809-2828
127. Kim S, Choi B, Kim Y, Shim G, (2023) Immune-Modulating Lipid Nanomaterials for the Delivery of Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics* 15(6):1760
128. Shetty K, Yasaswi S, Dutt S, Yadav KS (2022) Multifunctional nanocarriers for delivering siRNA and *miRNA* in glioblastoma therapy: advances in nanobiotechnology-based cancer therapy. *3 Biotech* 12(11): 301
129. Austria ES, Akhavan B (2025) Polymeric nanoparticle synthesis for biomedical applications: advancing from wet chemistry methods to dry plasma technologies. *Nanoscale* 17: 21
130. Kimiz-Gebologlu I, Oncel S (2022) Exosomes: Large-scale production, isolation, drug loading efficiency, and biodistribution and uptake. *J Control Release* 347: 533-543
131. Zhang Y, Zhang S, Li Y, Jin W, Zhou L, Lu J (2025) Role and relevance of exosome-mediated epigenetic regulation in the pathogenesis, diagnosis and treatment of cardiovascular diseases (Review). *Mol Med Rep* 33(5): 2026
132. Behrouzian Fard G, Ahmadi H, Gholamin M, Amirfakhrian R, Saberi Teimourian E, Karimi MA, Hosseini Bafghi M (2024) CRISPR-Cas9 technology: As an efficient genome modification tool in the cancer diagnosis and treatment. *Biotechnol Bioeng* 121(2): 472-488
133. Xie J, Burt DR, Gao G (2015) Adeno-Associated Virus-Mediated MicroRNA Delivery and Therapeutics. *Semin Liver Dis* 35(01): 081-088
134. Oh B, Song H, Lee D, Oh J, Kim G, Ihm SH, Lee M (2017) Anti-cancer effect of R3V6 peptide-mediated delivery of an anti-microRNA-21 antisense-oligodeoxynucleotide in a glioblastoma animal model. *J Drug Target* 25(2): 132-139
135. Kang M, Zhuang C, Oh J, Lee M (2024) Pulmonary Delivery of Anti-microRNA Oligonucleotide and Glycyrrhizic Acid Using Ternary Peptide Micelles for the Treatment of Acute Lung Injury. *Biomater Res* 28: 107
136. Yin Y, Tian N, Deng Z, Wang J, Kuang L, Tang Y, Zhu S, Dong Z, Wang Z, Wu X, Han M, Hu X, Deng Y, Yin T, Wang Y (2024) Targeted Microglial Membrane-Coated MicroRNA Nanosponge Mediates Inhibition of Glioblastoma. *ACS Nano* 18(42): 29089-29105
137. Ebert MS, Sharp PA (2010) MicroRNA sponges: Progress and possibilities. *RNA* 16: 2043-2050
138. Seyhan AA (2024) Trials and Tribulations of MicroRNA Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences* 25(3):1469
139. Fareh M, Almairac F, Turchi L, Burel-Vandenbos F, Paquis P, Fontaine D, Lacas-Gervais S, Junier MP, Chneiweiss H, Virolle T (2017) Cell-based therapy using miR-302-367 expressing cells represses glioblastoma growth. *Cell Death Dis* 8(3): e2713

The role of *miRNAs* in the pathogenesis, diagnosis, and personalized therapy of glioblastoma multiforme

Anna Bielecka-Wajdman

Department of Pharmacology, Medical University of Silesia in Katowice, Medyków 18 Street, 40-752 Katowice

✉ corresponding author: abielecka-wajdman@sum.edu.pl, bielecka.wajdman@gmail.com

Glioblastoma multiforme (GBM) is a malignant, hypercellular, and invasive brain tumor characterized by high mortality and recurrence. Their strong heterogeneity, mitotic activity, microvascular proliferation, and foci of necrosis induce therapeutic resistance, resulting in a 5-year survival rate of only 5% in patients diagnosed with glioblastoma. Therefore, it is necessary to identify new targets to improve prognosis, better predict prognosis, and monitor treatment outcomes. It has been suggested that *miRNAs* – small, single-stranded, non-coding RNAs consisting of 20-22 nucleotides – may be potential candidates for clinical biomarkers in glioblastoma patients. They participate in the post-translational regulation of gene expression through RNA interference. It is believed that, due to their ability to control the biological processes underlying GBM development, *miRNAs* may aid in the design of drugs for personalized glioma therapy. This article presents the latest insights into the role of *miRNAs* in the pathogenesis and diagnosis of GBM and as a potential therapeutic target.

Potencjalna rola terapeutyczna miRNA oraz ich znaczenie na poziomie komórkowym

