

فارماکوژنومیکس و MicroRNAs

چکیده

فارماکوژنومیکس تأثیر ژنوم را بر ایمنی و اثربخشی پاسخ دارو بررسی می کند. اگرچه تحقیقات در این زمینه سال ها پیش آغاز شده است.

اما در حال حاضر تعداد کمی از مطالعات کاربردی در موارد بالینی مورد استفاده قرار می گیرند. MicroRNA ها RNA های کوتاه non-coding هستند که در مناطق بین ژن ها هستند و بیان آن ها را تنظیم می کنند. MiRNA ها توسط ژنوم رمزگذاری می شوند و در تمام سلول های حیوانی بیان می شوند. پیش بینی می شود MiRNA ها تقریباً نیمی از ژن های انسانی را هدف قرار دهند و در نتیجه بسیاری از فرایندهای سلولی را تنظیم می کنند. تمرکز فعلی فارماکوژنومیک شناسایی پلی مورفیسم ها در ژن های کاندیدایی است که آنزیم های متابولیزه دارو، ناقلین دارو و اهداف دارویی کد می کنند. در اینجا ما miRNA ها را به عنوان یک لایه نظارتی اضافی موثر بر فارماکوژنومیک ارزیابی می کنیم. برای نشان دادن پتانسیل miRNA ها برای تأثیر در پاسخ به دارو، از ارزیابی in silico مناطق اتصال miRNA در ژن های شناخته شده در تأثیر دارو، استفاده کردیم. ما پیشنهاد می کنیم که miR-133 و miR-137 ممکن است بیان VKORC1 را تحت تأثیر قرار دهند در حالی که miR-22 ممکن است بیان MTHFR را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین miRNA ها می توانند به عنوان یک سطح تنظیم کننده جدید که بر متابولیسم دارو و اهداف دارویی تأثیر می گذارد، نقشی اساسی داشته باشند؛ بنابراین در هنگام انجام مطالعات فارماکوژنومیک باید مورد توجه قرار گیرند.



حمیدرضا حاجی حسینی گزستانی^۱

^۱- کارشناسی سلولی مولکولی دانشگاه سراسری علوم تحقیقات گنبد کاووس تهران، تهران، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن

(22 نوکلئوتید) هستند که در تمام سلول های حیوانی و

گیاهی بیان می شوند.

این مولکول های کوچک RNA، به انتهای 3' مولکول mRNA متصل شده و آن ها را برای تخریب و یا مهار ترجمه علامت گذاری می کنند (شکل 1 A). صدها miRNA مختلف در حیوانات وجود دارد که برخی از آن ها با هزاران نسخه در هر سلول بیان می شوند. پیش بینی می شود که هر miRNA از طریق یک منطقه شش نوکلئوتیدی کوتاه در 3'-UTR (شکل 1 BC)، تقریباً 200 ژن را هدف قرار داده و به آن ها متصل می شود، که منجر به تنظیم تقریباً نیمی از mRNA های رونویسی شده در انسان می شود در نتیجه جای تعجب نیست که بسیاری از فرآیندهای سلولی و فیزیولوژیکی در سلامتی و بیماری با تغییر در بیان miRNA همراه هستند. از جمله این موارد تمایز، رشد، رشد، آپوپتوز، سرطان و اختلالات عصبی است.

تمرکز فعلی فارماکوژنومیک در درجه اول مطالعه اثرات فنوتیپی SNP ها و سایر تغییرات ژنتیکی (مانند تغییرات تعداد کپی) در ژن های متابولیزه کننده دارو و هدف دارویی است. این تلاش های هماهنگ تاکنون منجر به توصیه های بسیار محدودی برای استفاده بالینی توسط FDA شده است.

به تازگی محققان خواستار تجزیه و تحلیل جامع ژنوم

فارماکوژنومیکس: گذشته، حال و آینده

فارماکوژنومیکس سهم ژنوم ها، ترانسکریپتوم ها و پروتئوم ها را در تعیین فنوتیپ های پاسخ دارویی (ایمنی و اثر بخشی) مطالعه می کند. هدف اصلی تحقیق فارماکوژنومیک، ایجاد آزمایش های پیش بینی مبتنی بر ژنوتیپ یا رونویسی از اثربخشی دارو یا سمیت آن است. اگرچه تحقیقات در این زمینه بیش از 50 سال پیش آغاز شده است، در حال حاضر تعداد کمی برنامه کاربردی در محیط بالینی اجرا می شود. miRNA ها در کنترل پس از رونویسی نقش دارند و با کنترل بیان آنزیم های متابولیزه کننده داروها، ناقلین دارو و اهداف دارویی، یک سطح اضافی از تنظیم پیچیده پاسخ به دارو را ایجاد می کند. با این حال، یک پیش نیاز برای درک نقش miRNA ها در فنوتیپ های پاسخ به دارو، درک قابل اعتماد از تعامل بین مولکول های miRNA و اهداف ژن بی شمار آن ها است.

MiRNA ها: بازیکنان جدید، مفاهیم جدید

MiRNA ها یک رشته نسبتاً جدید را در تحقیقات زیست پزشکی معرفی کردند. miRNA ها که در سال 1993 شناسایی شده و به طور گسترده ای از 2001 مورد استقبال قرار گرفته اند، RNA های noncoding کوتاه



محل تمرکز تحقیقات فارماکوژنومیک هستیم. اگر فرضیه اصلی ما این باشد که میزان بیان ژن های کد کننده آنزیم های متابولیزه کننده دارو، مواد حمل کننده دارو یا اهداف دارویی، اثربخشی یا سمیت دارو را اصلاح می کنند، مبنای مطالعات فارماکوژنومیک در تجزیه و تحلیل توالی DNA، تفسیر تجربی را به شدت مغرضانه می کند. ما پیشنهاد می کنیم که بسیاری از سطوح داخل سلولی ژن های کاندیدا نیز توسط miRNA ها تنظیم می شوند. روش های مختلفی وجود دارد که miRNA می تواند بیان ژن هایی را کنترل کند که محصولات آنها بر واکنش دارو

بدون دنبال کردن هدفی خاص، به منظور نقشه برداری از ارتباط کل ژنوم با اثربخشی دارو شده اند. این تصور با در دسترس بودن فناوری های توالی یابی با توان بالا برای توالی عظیم نوکلئوتیدها (مانند NGS و یا deep-sequencing)، که امکان توالی کل مناطق ژنومی و نه تنها SNP ها را فراهم می کند، همزمان است. این فناوری های جدید همچنین می توانند برای مطالعه چگونگی تأثیر اپی ژنتیک در پاسخ به دارو از طریق الگوهای متیلاسیون DNA استفاده شوند. در اینجا ما خواستار الحاق miRNA ها به موضوعات



شکل ۱. تنظیم بیان ژن توسط MicroRNA

(A) تعامل بین miR و ژن رمزگذار پروتئین. یک منطقه اتصال که حداقل شش نوکلئوتید بین انتهای ۵' در miR و ۳'-UTR ژن هدف باشد برای ایجاد مهار از طریق تخریب miR یا مهار ترجمه لازم است. (B) تعامل بین miR-۱۳۳ و miR-۱۳۷ در ۳'-UTR ژن VKORC1 و (C) بین miR-۲۲ و ۳'-UTR ژن MTHFR نشان داده شده است. ما توجه داریم که هر سه سایت اتصال miR در تکامل بسیار محافظت می شوند که نشان دهنده عملکرد واقعی آنها است. miR: MicroRNA

و در نتیجه بیان بیش از حد آن و مقاومت به متوترکسات می شود.

با این حال ، این نمونه ها دو مورد از موارد محدود منتشر شده در رابطه با اثرات miRNA بر فنوتیپ های پاسخ دارو هستند. در اینجا، ما نمونه های جذاب دیگری را که در حال حاضر آزمایشی است، پیشنهاد می کنیم که باید بررسی شوند. با در نظر گرفتن ژنوتیپ فرد برای سیتوکروم P450، خانواده 2، زیر خانواده C، پلی پتید 9 (CYP2C9) و اپوکسید ردوکتاز ویتامین KVKORC1 ممکن است استفاده از داروی ضد انعقاد وارفارین ایمن و موثرتر شود.

با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک موجود، ما دو سایت اتصال گسترده توسعه یافته miR-133 و miR-137 در VKORC1 را شناسایی کرده ایم که نشان دهنده تنظیم موثر و قوی این miRNA ها است.

بنابراین، در صورتی که حداقل یکی از این miRNA ها در یک فرد اصلاح شود، می تواند اثر وارفارین را تغییر دهد.

تأثیر می گذارد. با توجه به وجود محل اتصال miRNA در 3'-UTR، حداقل یک پیش نیاز اضافی برای تغییر در سطح سلولی SNP، miRNA ها یا سایر تغییرات اثری در محل اتصال miRNA در 3'-UTR لازم است. اصلاح توالی در ژن miRNA خود بر بیان، بیوژنز، پایداری یا میل اتصال آن به ژن هدف تأثیر می گذارد.

برخی از نمونه های تثبیت شده و آزمایشی

این نوع از فعل و انفعالات توسط چند تیم تحقیقاتی در زمینه ژن های مربوط به فارماکوژنومیک مشاهده شده است. به عنوان مثال، آنزیم متابولیزه کننده دارو، CYP1B1، در انواع مختلف سرطان های بدخیم بسیار بیان می شود و همچنین نشان داده می شود که به طور فعال توسط miR-27b تنظیم می شود.

تصویر دیگر پلی مورفسم در یک محل اتصال miRNA بر روی ژن دی هیدروفلوات ردوکتاز (DHFR) است که منجر به از دست دادن اتصال miRNA در 3'-UTR آن



به عنوان پیش بینی کننده پاسخ سلولی در یک جمعیت متغیر از افراد باشد. از آنجا که مشخص شد miRNA ها بیماری انسان را با دقت بهتری نسبت به بیان ژن طبقه بندی می کنند، پیش بینی می کنیم که آن ها پاسخ دارو را نیز به روشی برتر دسته بندی کنند. بنابراین، ما خواستار یک مطالعه جامع برای رمزگشایی از نقشی هستیم.

که miRNA ها در فارماکوژنومیکس بازی می کنند. برای هر آزمایش پاسخ به دارو، ما پیشنهاد می کنیم آنالیز miRNA با توان بالا، پیش بینی سایت های اتصال miRNA و تعیین توالی تمام 3'-UTR های مربوطه را انجام دهیم. در حالی که مورد دوم بیشتر وقت گیر و بودجه است، مطابقت بین سه لایه اطلاعات منجر به شناسایی بی طرفانه اصول دارویی مرتبط با miRNA می شود.

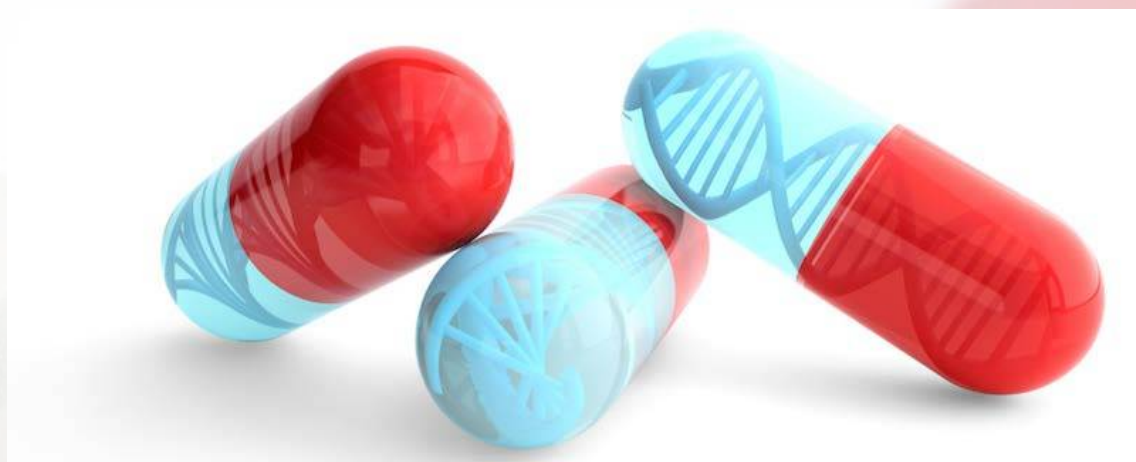
مطالعه مبنای ژنتیکی پاسخ دارو می تواند به روشن سازی مکانیسم های اثر دارو کمک کرده و توسعه آزمایش های پیش بینی مبتنی بر ژنوتیپ، رونویسی یا پروتئوم را

که منجر به تنظیم نادرست بیان VKORC1 می شود. توجه داشته باشید، گزارش شده است که miR-137 با خونسازی همراه است. مثال دیگری که ارائه می دهیم مبتنی بر ژن 5، 10 متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) است که یک آنزیم اصلی برای هموستاز فولات داخل سلولی و متابولیسم است. دو پلی مورفیسم متداول MTHFR، منجر به فعالیت های مختلف آنزیمی می شود.

که با حساسیت به سرطان در ارتباط است. 3'-UTR ژن، پیش بینی های خوبی برای سایت های اتصال miRNA بسیار محافظت شده دارد، که مشخص شد یکی از آن ها (miR-22) در سلول های سرطانی تغییر یافته است. بنابراین، فعل و انفعالات miRNA هدایتی که در اینجا مطرح شده است، نیاز به ارزیابی سطح ژن های متابولیزه کننده دارو را در بافت سلولی هنگام تجویز دارو نشان می دهد.

یک مطالعه ارزیابی تاثیر استرس بر روی سلول های لنفوبلاستوئید منفرد نشان داد که اثر ژن خاص می تواند





که در صورت پیروی از مطالعات اساسی اثر بخشی و سمیت، در ترکیب با تجزیه و تحلیل miRNA و پروفایل 3'-UTR، miRNAها پتانسیل بلقوه ی خود را نمایان می کنند.

منبع:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20415550/>

برای اثربخشی و سمیت دارو تسهیل کند. اثر تنظیمی miRNAها بر روی سطح ژن ها همیشه غالب یا شدید نیست، با این وجود آن ها توانایی تغییر بیان ژن جهانی را به روشی قابل ملاحظه دارند. ما بیان تصادفی بین فردی miRNAها را در بافت های طبیعی انسان مشاهده کردیم که نشان می دهد پاسخ به داروها ممکن است در سطح این تنظیم کننده های سلولی سخت گیر باشد. ما پیشنهاد می کنیم.

که دانش فعلی ما از miRNAهای درگیر در فارماکوژنومیک تنها نوک کوه یخ است، و بسیاری از این متغیرها تنظیم مستقیم آنزیم های متابولیزه دارو، حمل دارو، اهداف دارویی یا هدف دارویی بالا و پایین پروتئین های درگیر در پاسخ به دارو بیان MiRNA و نقشه برداری نظارتی توسعه ابزارهای دارویی بهتر را امکان پذیر می کند و همچنین می تواند در پروژه های جدید تولید دارو نقش مهمی داشته باشد.

ما در اینجا در مورد انتظارات زیادی از دنیای miRNA برای ارائه یک لایه تنظیم کننده جدید تحت تأثیر متابولیسم دارو بحث کردیم و اطمینان داریم.