

## Pengenalan MicroRNA: Sebuah Panduan untuk Klinisi dan Peneliti di Bidang Kedokteran

*An introduction to MicroRNA: A Primer for Clinicians and Medical Researchers*

Ardo Sanjaya<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65, Kota Bandung 40164, Jawa Barat, Indonesia

\*Penulis korespondensi

Email: ardo.sanjaya@med.maranatha.edu

Received: March 26, 2021

Accepted: December 20, 2022


### Abstrak

MicroRNA (MiRNA) adalah RNA pendek (sekitar 22 nukleotida) yang tidak mengkode pembentukan protein tetapi mengatur banyak fungsi penting dalam tubuh manusia. MiRNA pertama ditemukan pada tahun 1993 dan sekarang telah ditemukan mempengaruhi hampir semua penyakit manusia. MiRNA menjalani jalur pemrosesan terpisah dengan beberapa langkah di dalam nukleus dan sitoplasma. Proses ini juga dikontrol dengan ketat di banyak titik, menciptakan jalur regulasi yang sangat kompleks. Gangguan jalur ini dapat menyebabkan fenotipe penyakit seperti yang ditunjukkan oleh banyak pola ekspresi MiRNA yang terkait dengan keadaan penyakit. Namun, perkembangan mikroRNA masih relatif baru, dan ada banyak hal yang masih belum kita ketahui. Oleh karena itu, artikel reviu ini bertujuan untuk memberikan pendahuluan mengenai MiRNA mulai dari sejarahnya hingga perkembangan terbaru bagi para klinisi dan peneliti. Dalam pembuatan reviu ini dilakukan pencarian dengan kata kunci MiRNA melalui sistem pencarian *PubMed* pada pangkalan data *MEDLINE*. Hasil pencarian yang relevan akan dipilih oleh peneliti untuk diikutsertakan dalam artikel ini. Berdasarkan pencarian didapatkan bahwa MiRNA memiliki regulasi yang sangat kompleks dengan efek yang luas pada tubuh manusia. Efek dari MiRNA ini dapat ditemukan pada kondisi infark miokard, diabetes, hingga kanker. Suatu hari nanti, terapi berbasis RNA mungkin menjadi hal yang umum sehingga peneliti dan klinisi harus terbiasa dengan subjek yang berkembang pesat ini.

**Kata kunci:** microRNA; pembentukan microRNA; kanker; diabetes; pengobatan berbasis RNA

### How to Cite:

Sanjaya A. Pengenalan microrna: sebuah panduan untuk klinisi dan peneliti di bidang kedokteran. *Journal of Medicine and Health*. 2023; 5(1): 80-94. DOI: <https://doi.org/10.28932/jmh.v5i1.3540>

© 2023 The Authors. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License. 

Review Article

**Abstract**

*MicroRNA (MiRNA) is a short non-coding RNA (about 22 nucleotides) that regulates many essential functions in the human body. The first MiRNA was found in 1993 and has been found to influence almost all human diseases. Unlike conventional mRNA, the MiRNA underwent a separate processing pathway with multiple steps inside the nucleus and the cytoplasm. This process is also tightly controlled at multiple points, creating a complex regulatory pathway. Disruption of this pathway may result in disease phenotype as shown by the many MiRNA expression patterns associated with disease states. However, microRNA development is relatively new, and there is so much that we still do not know. Therefore, this review article aims to provide a primer for MiRNA from its history to its most recent development for clinicians and researchers. A search using PubMed on the MEDLINE database using the keywords MiRNA was conducted. Relevant results were chosen by the researcher to be used in this article. Based on the results, we found that MiRNA have complex regulations with far reaching effects on the human body, ranging from diabetes to cancers. Since this day, RNA-based therapies may be the norm, researchers and clinicians must be familiar with this rapidly expanding subject.*

**Keywords:** *microRNAs; microRNAs development; cancers; diabetes; RNA based therapeutics*

**Pendahuluan**

MicroRNA (MiRNA) adalah asam ribonukleat (RNA) dengan jumlah nukleotida sedikit (sekitar 22 nukleotida) yang mempunyai efek penting dalam menjaga fungsi tubuh manusia. Tetapi, bila RNA pada umumnya memengaruhi metabolisme tubuh dengan cara menghasilkan protein, MiRNA tidak mengode protein apapun. MiRNA berperan dalam regulasi fungsi dengan cara berikatan dan menginduksi pemotongan mRNA atau menekan proses translasinya menjadi protein. Hal ini menjadi salah satu jalur regulasi *post-transcriptional* yang sangat menarik karena luasnya kombinasi dan hasil yang mungkin terjadi. Oleh karena itu, pengetahuan mengenai MiRNA tidak hanya penting untuk peneliti di bidangnya, tetapi juga untuk dunia medis secara keseluruhan.

Kemampuan MiRNA untuk mengontrol fungsi-fungsi tubuh ternyata memiliki efek yang sangat luas pada tubuh manusia. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa gangguan pada regulasi MiRNA memiliki hubungan dengan berbagai penyakit pada manusia.<sup>1-3</sup> Sebagai contoh, kelompok miR-17-92 telah diketahui menghambat ekspresi E2F, sebuah *tumor suppressor gene*.<sup>4</sup> Selain itu, beberapa pola MiRNA tertentu juga ditemukan pada kanker-kanker manusia seperti kanker pada prostat<sup>5</sup>, paru<sup>6</sup>, payudara<sup>7</sup>, usus besar<sup>8</sup>, dan ovarium<sup>9</sup>. Dari penemuan ini, sangat logis bila para peneliti berpikir untuk melakukan intervensi jalur MiRNA. Dalam satu dekade terakhir perkembangan ilmu pengetahuan telah berusaha untuk melakukan intervensi terhadap MiRNA. Pada awalnya terdapat banyak kendala karena kerentanan MiRNA terhadap degradasi dan masalah untuk membawa obat ini ke sel target. Tetapi, beberapa perusahaan pengobatan berbasis MiRNA akhirnya telah berhasil mencapai fase klinis uji kepada manusia.<sup>1</sup>

Review Article

Selain sebagai target terapi, MiRNA juga menjadi dasar dari beberapa *biomarker* untuk mendeteksi berbagai penyakit, khususnya pada kanker.<sup>10</sup> Salah satu penelitian paling awal yang menemukan bahwa MiRNA dapat digunakan sebagai *biomarker* adalah penelitian oleh Lawrie, *et al.*<sup>11</sup> Mereka menemukan bahwa pada pasien dengan limfoma, terdapat peningkatan MiRNA yang spesifik terhadap tumor tersebut pada serum.<sup>11</sup> Hal ini merupakan hal yang baru karena selama ini RNA dianggap tidak dapat digunakan sebagai *biomarker* pada darah karena memiliki kandungan enzim nuklease nya yang tinggi. Tetapi penelitian lanjutan menemukan bahwa MiRNA cukup stabil pada darah untuk deteksi kanker.<sup>12</sup> Hal ini disebabkan adanya kompleks protein bernama *Argonaute2* yang bertugas membawa MiRNA pada plasma manusia.<sup>13</sup> Dengan banyaknya jumlah MiRNA, kemudahan aksesnya, serta dengan spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi, area ini menunjukkan potensi penelitian yang sangat luas.

Walaupun MiRNA tidak dapat menghasilkan protein, mereka tetap mampu mengontrol ekspresi gen dengan cara berinteraksi dengan mRNA. Efek ini bahkan sangat signifikan yang ditunjukkan oleh dengan berbagai penyakit yang muncul akibat gangguan regulasi MiRNA. MiRNA mulai dipelajari sebagai target intervensi dan *biomarker* karena efeknya yang luas dan spesifisitasnya terhadap jaringan dan fungsi tertentu. Dengan perkembangan ilmu yang sangat cepat, tidak mustahil bila di masa depan pengobatan berbasis RNA menjadi pengobatan yang umum. Tujuan penulisan artikel revidi ini adalah untuk mengulas perkembangan MiRNA sebagai panduan untuk para klinisi dan peneliti pemula untuk memulai pembelajaran di bidang MiRNA.

### Sejarah MiRNA

Tiga puluh tahun yang lalu, dengan masih melekatnya dogma sentral pada pola pikir peneliti, menyebabkan disisihkannya penelitian mengenai gen atau urutan basa yang tidak mengkode protein. Eksistensi MiRNA pun belum diketahui sebagai regulator dari ekspresi gen. Hanya setelah penelitian pada tahun 1993 yang dilakukan di laboratorium Ambros dan Ruvkun maka keberadaan MiRNA sebagai *non-coding* RNA dengan efek regulasi ekspresi gen menjadi fokus perbincangan.<sup>14,15</sup>

Pada tahun 1980an, dua kelompok peneliti yaitu Ambros dan Ruvkun memiliki fokus penelitian pada satu spesies nematoda yang disebut *Caenorhabditis elegans*, khususnya mengenai gen *heterochronic*.<sup>16</sup> Gen *heterochronic* adalah gen-gen yang mengendalikan transisi perkembangan dari suatu organisme. Salah satu gen yang menjadi fokus adalah gen lin-14 karena mutasi baik penambahan atau kehilangan fungsi pada gen ini menyebabkan kegagalan perkembangan dari *C. elegans*. Gen ini diketahui diregulasi secara negatif oleh lin-4 tetapi tidak diketahui komponen protein apa yang dikode gen ini dan regulasi dari lin-4/lin-14 tidak mengubah

Review Article

ekspresi dari mRNA kedua gen ini.<sup>16</sup> Hal yang menarik adalah lokasi mutasi penambahan fungsi pada gen *lin-14* berada pada wilayah 3'UTR yang tidak diterjemahkan menjadi suatu protein. Kelompok peneliti Ambros akhirnya menemukan bahwa *lin-4* merupakan gen yang mengode RNA. Dari temuan ini tercetuslah ide bahwa regulasi *lin-14* oleh *lin-4* terjadi akibat interaksi antar RNA.

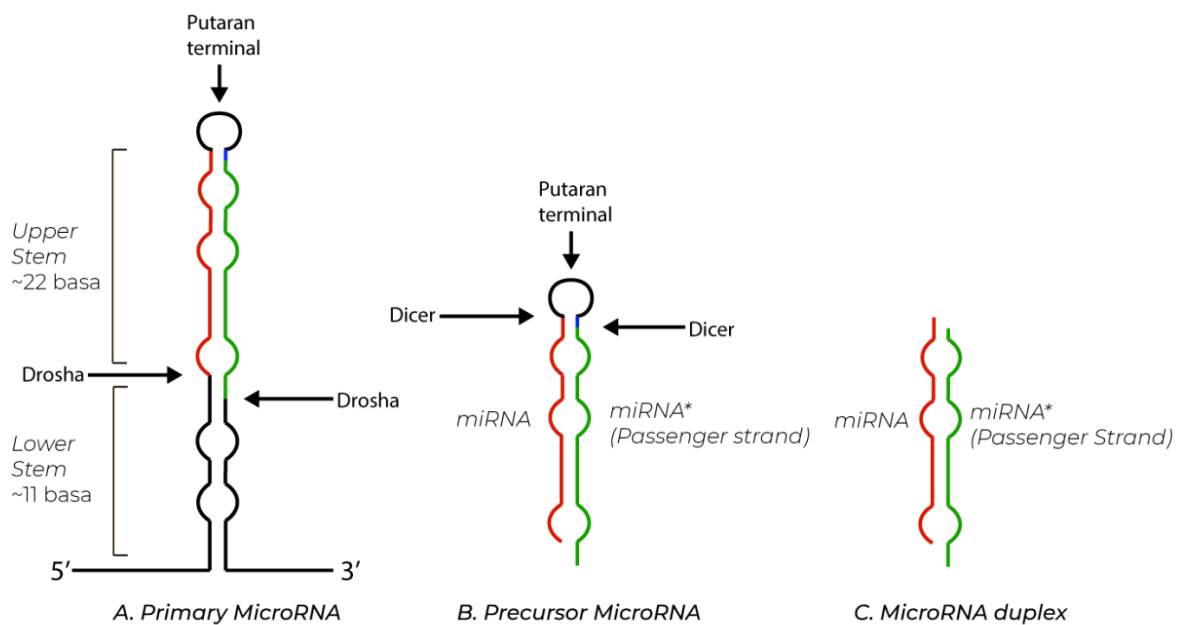
Temuan menarik selanjutnya terjadi saat kelompok peneliti Ambros dan Ruvkun saling bertukar data mengenai urutan basa dari gen *lin-4* dan urutan basa 3' UTR dari gen *lin-14*.<sup>16</sup> Melalui dua publikasi, kedua kelompok ini mengungkapkan bahwa terdapat beberapa elemen pada area 3'UTR dari gen *lin-14* yang memiliki pasangan komplemen dengan *lin-4*.<sup>14,15</sup> Pasangan komplemen ini juga ternyata tetap ditemukan pada spesies lain yaitu *C. briggsae*.<sup>14</sup> Hal ini menunjukkan bahwa daerah ini sangat penting dan terjaga bahkan pada spesies yang berbeda. Tetapi, temuan ini tidak langsung mengalihkan fokus para peneliti ke MiRNA terutama karena belum ditemukannya homolog *lin-4* pada spesies lain. Penelitian lanjutan oleh Reinhart, *et al.*<sup>17</sup> yang kemudian membuka seberapa luasnya dunia MiRNA pada makhluk hidup.

Reinhart, *et al.*<sup>17</sup> menemukan bahwa selain *lin-4*, sebuah gen bernama *let-7* juga mempengaruhi perkembangan larva dari *C. elegans*. Mereka menyimpulkan bahwa regulasi dari *let-7* dan *lin-4* memiliki kemiripan yaitu sebagai RNA kecil dengan kemampuan untuk mengendalikan urutan perkembangan di *C. elegans*. Berbeda dengan *lin-4* yang tidak memiliki homolog pada spesies lain, *let-7* ditemukan memiliki homolog pada *Drosophila melanogaster* dan bahkan pada genom manusia.<sup>18</sup> Penelitian lain oleh Slack, *et al.*<sup>19</sup> juga menemukan bahwa mRNA target dari *let-7* yaitu *lin-41* juga memiliki gen homolog pada *Drosophila* dan manusia. Semakin mempertegas temuan ini adalah kajian informatika yang menemukan ratusan gen kandidat MiRNA dengan mencari kemiripan struktur dan konservasi urutan basa pada genom *C. elegans*.<sup>20</sup> Hingga saat ini, temuan-temuan ini sudah dikumpulkan dalam sebuah basis data di internet bernama miRBase.<sup>21</sup> Penemuan MiRNA membuka pintu dan dunia yang lebih luas terhadap regulasi ekspresi genetik melalui RNA kecil yang tidak mengode protein.

### Pembentukan MiRNA

Pada manusia, pembentukan MiRNA terdiri atas dua langkah utama yaitu pemotongan di dalam nukleus dan pada sitoplasma.<sup>22</sup> Di dalam nukleus, susunan kode genetik MiRNA dapat ditemukan pada beberapa lokasi. Pada manusia sebagian besar dari MiRNA dapat ditemukan pada segmen *intron*.<sup>23</sup> Tetapi, beberapa MiRNA dapat ditemukan sebagai gen khusus (terletak pada segmen ekson). Transkripsi MiRNA dari DNA genom sebagian besar dilakukan oleh enzim RNA polimerase II (RNA pol II). Perbedaan hasil transkripsi oleh RNA pol II bergantung pada letak

dari MiRNA pada segmen intron atau segmen ekson.<sup>23-25</sup> MiRNA yang terletak pada segmen ekson akan ditranskripsi oleh RNA pol II menjadi *primary* MiRNA (pri-MiRNA). MiRNA ini mengikuti jalur yang disebut sebagai jalur *canonical* yang memerlukan *Drosha* dan *Drosha* untuk mengubah pri-MiRNA menjadi MiRNA aktif (Gambar 1). Bila MiRNA terletak pada segmen intron, hasil transkripsi dari RNA pol II disebut sebagai mirtron.<sup>24,26</sup> Mirtron ini mengikuti jalur yang disebut sebagai jalur *non-canonical*. Pada jalur ini, mirtron hanya membutuhkan bantuan *Drosha* untuk menjadi MiRNA aktif. Proses maturasi MiRNA dapat lebih dipahami secara skematis melalui Gambar 1.



**Gambar 1. Struktur dari MicroRNA Saat Proses Produksi di Dalam Nukleus dan Sitoplasma**<sup>22,23,25</sup>

Keterangan:

A. *Primary MicroRNA* dihasilkan dari segmen gen *microRNA* yang ditranskripsikan oleh enzim RNA Pol II. Struktur *primary microRNA* sangat khas dengan bagian yang disebut sebagai *lower stem*, dan *upper stem*. Pemotongan oleh *Drosha* akan menghasilkan struktur yang disebut sebagai *precursor microRNA*.

B. Hasil pemotongan oleh *Drosha* akan menyisakan kelebihan nukleotida pada ujung 3' dari *precursor* MiRNA. Kelebihan nukleotida ini nanti akan menjadi bagian yang dikenali oleh *Drosha* untuk kemudian dilakukan pemotongan bagian putaran terminal dari *precursor microRNA*.

C. Setelah dilakukan pemotongan oleh *Drosha* dan *Drosha*, *precursor microRNA* akan berubah menjadi double stranded RNA, atau yang disebut *microRNA duplex*. Duplex ini nanti akan dimasukkan ke dalam kompleks *rna induced silencing complex* (RISC) untuk menjalankan fungsinya.

Pri-MiRNA dari jalur *canonical* akan dipotong oleh enzim RNase III bernama *Drosha* (Gambar 2). *Drosha* akan memotong kedua untai pri-MiRNA pada dasar simpulnya dan menghasilkan produk dengan ukuran 60-70 nukleotida yang disebut *precursor mi-RNA pre-MiRNA*.<sup>23</sup> Pemotongan oleh *Drosha* ini dibantu oleh *RNA-binding protein DiGeorge syndrome critical region gene 8* (DGCR8) yang akan melekat pada RNA. Hal yang sangat unik adalah hasil

Review Article

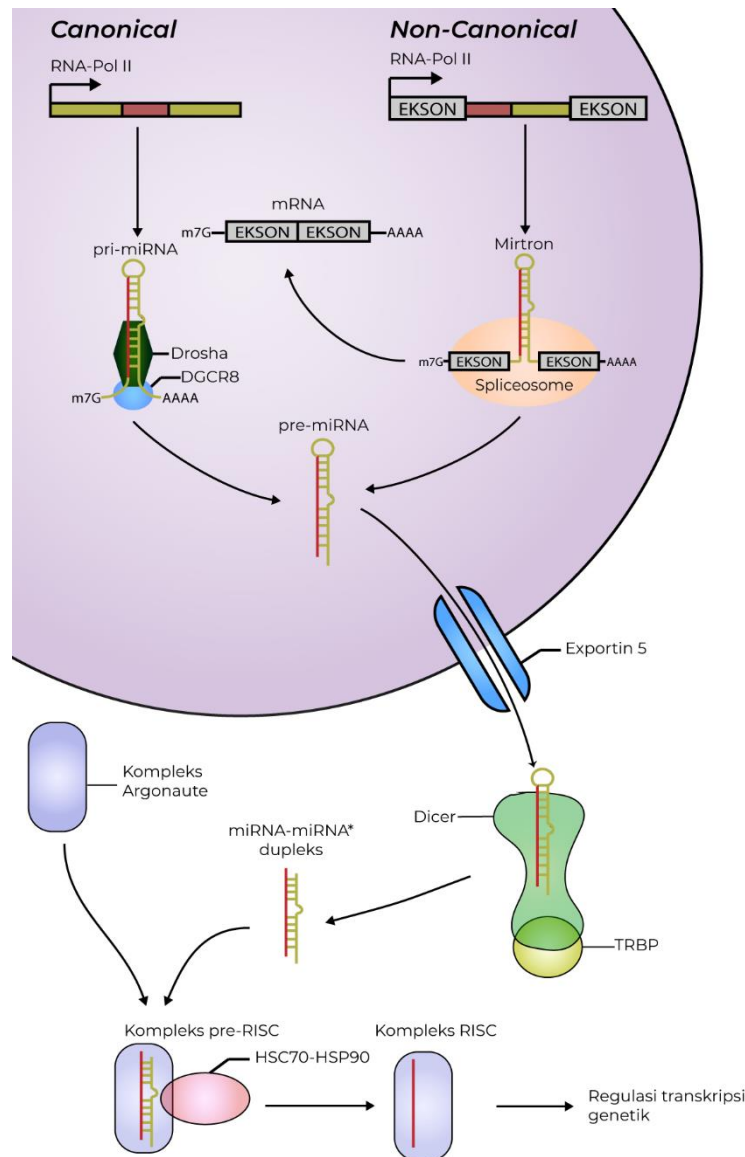
potongan dari *Drosha* ini akan menghasilkan pre-MiRNA dengan potongan yang tidak rata dengan akhir fosfat pada ujung 5' dan kelebihan 2 urutan basa pada ujung 3'.<sup>23,25</sup> Tetapi, berbeda dengan jalur *canonical*, mirtron tidak perlu melewati pemotongan oleh *Drosha*. Mirtron akan mengalami proses pemotongan seperti yang biasa terjadi pada pembuatan mRNA. Proses pemotongan ini akan menghubungkan bagian ekson untuk menjadi mRNA dan menyisakan bagian intron. Intron yang dihasilkan pada proses pemotongan ini mempunyai bentuk seperti lasso dan sangat berbeda dengan bentuk pre-MiRNA. Sebuah enzim yang disebut *lariat debranching enzyme* akan mengubah intron tersebut menjadi bentuk lipatan pre-MiRNA yang sama seperti pre-MiRNA di jalur *canonical*.<sup>24,27</sup> Pre-MiRNA yang dihasilkan kedua jalur tersebut akan dipindahkan dari nukleus ke sitoplasma oleh protein bernama *exportin-5*.<sup>28</sup> *Exportin-5* akan mengenali kelebihan 2 urutan basa pada ujung 3' dan akan memindahkan pre-MiRNA dari nukleus ke sitoplasma.<sup>29</sup> Perlu diketahui bahwa jalur *non-canonical* ini terdiri atas beberapa tipe dan tidak semua dibahas pada artikel ini.

Pre-MiRNA yang berada di sitoplasma akan mengalami pematangan lebih lanjut oleh protein bernama *Drosha*. *Drosha* secara khusus akan berikatan pada kelebihan urutan basa pada ujung 3' yang dihasilkan oleh *Drosha*.<sup>30</sup> Hal ini dikarenakan protein ini memiliki kantung khusus yang akan berikatan pada ujung 5' dan 3' sekaligus bila terdapat kelebihan 2 nukleotida pada ujung 3'.<sup>23</sup> Secara umum, *Drosha* akan memotong RNA untai ganda pada urutan tertentu dari ujung 3'. Panjang urutan basa ini biasanya 21-25 nukleotida dan sangat tergantung terhadap organisme asal dan jenis protein *Drosha*. Pada mamalia dan lalat, *Drosha* tidak hanya tergantung dari ujung 3' melainkan juga mampu memotong menggunakan urutan dari ujung 5' sebanyak 22 nukleotida.<sup>31</sup> Hal ini diduga karena ujung 5' pada pre-MiRNA secara umum lebih homogen dibandingkan dengan ujung 3' sehingga terjadi perubahan dari protein *Drosha* untuk menggunakan ujung 5' sebagai titik referensi.<sup>31</sup>

Setelah pre-MiRNA dipotong oleh *Drosha*, MiRNA-MiRNA\* dupleks akan dimasukkan ke dalam *RNA induced silencing complex* (RISC). MiRNA-MiRNA\* dupleks akan dimasukkan ke dalam protein bernama Argonaute (AGO) melalui proses yang membutuhkan ATP. Kompleks protein *heat shock cognate 70* (HSC70) - *heat shock protein* (HSP90) menggunakan ATP untuk membantu perubahan bentuk dari protein AGO sehingga protein ini mampu mengikat RNA untai ganda tersebut.<sup>32</sup> Setelah dupleks MiRNA berhasil dimasukkan ke dalam protein AGO, protein ini langsung melepaskan untai MiRNA\* untuk menghasilkan kompleks RISC yang aktif. Beberapa subtype protein AGO (AGO2 pada manusia) mampu memotong MiRNA\* secara langsung. Tetapi, tidak semua protein AGO memiliki kemampuan ini.<sup>33</sup> Oleh karena itu dupleks MiRNA lebih seringnya dibuka tanpa adanya pemotongan. Hal ini juga dibantu dengan adanya

Review Article

ketidakcocokan pasangan nukleotida pada posisi 2-8 dan 12-15.<sup>32,33</sup> Ilustrasi skematis mengenai proses pembentukan MiRNA dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Ilustrasi Skematis Mengenai Jalur Pembuatan MiRNA** <sup>23,24,27</sup>

Keterangan:

Jalur pembuatan MiRNA dapat dibagi menjadi jalur *canonical* dan *non-canonical*. Pada jalur *canonical*, gen yang mengkode MiRNA terletak pada lokasi khusus sebagai gen tersendiri. *Primary micro-RNA* (pri-MiRNA) ditranskripsikan oleh enzim *RNA polymerase II* (RNA-Pol II) dari gen micro-RNA. Pri-MiRNA kemudian akan diproses di dalam nukleus melalui bantuan protein *Drosha* dan protein *DiGeorge syndrome critical region gene 8* (DGCR8). Hasil pemotongan dari kedua protein ini akan menghasilkan *pre-MiRNA* yang siap untuk dibawa ke sitoplasma.

Pada jalur *non-canonical*, MiRNA terletak pada segmen intron dari gen konvensional. Bila pada jalur *canonical* pembacaan RNA-pol II akan menghasilkan pri-MiRNA, pada jalur ini hasil transkripsi dari RNA-Pol II akan menghasilkan *mirtron*. *Mirtron* akan dipotong oleh kompleks protein yang disebut *spliceosome* untuk menghasilkan mRNA dan *pre-MiRNA*. Jalur ini dapat menghasilkan MiRNA tanpa harus melalui bantuan *Drosha* dan DGCR8. Hasil *pre-MiRNA* dari jalur ini sudah siap untuk dibawa ke sitoplasma.

Perpindahan pre-MiRNA ke sitoplasma dibantu oleh protein *Exportin 5*. *Pre-MiRNA* yang berada pada sitoplasma akan dikenali oleh protein *Drosha* dibantu dengan protein *transactivation response element RNA-binding protein* (TRBP) dan akan dilakukan pemotongan. Hasil dari pemotongan kedua protein ini akan menjadi sebuah MiRNA dupleks. Protein *Argonaute* (AGO) dibantu oleh protein *heat shock cognate 70* (HSC70) - *heat shock protein* (HSP90) akan melepaskan MiRNA dupleks dan memasukkan MiRNA yang sudah matur ke dalam *RNA induced silencing complex* (RISC).

## Review Article

Kompleks RISC, khususnya MiRNA di dalamnya, akan berpasangan dengan mRNA yang spesifik untuk melakukan modifikasi *posttranscriptional*.<sup>34</sup> Bila kecocokan antara urutan MiRNA dengan mRNA sangat banyak, AGO akan mengatalisis pemotongan dari mRNA.<sup>35</sup> Tetapi, pada umumnya MiRNA tidak menginduksi pemotongan melainkan menekan translasi secara langsung, mengurangi kestabilan mRNA, atau kombinasi dari keduanya.<sup>36</sup> Penjelasan mendalam mengenai cara-cara MiRNA menghambat aktivitas transkripsi dari mRNA dapat dibaca pada artikel yang dibuat oleh Filipowicz, *et al.*<sup>37</sup>.

### Regulasi MiRNA

Sebagai salah satu regulator terkuat dalam kendali ekspresi genetik, sangat wajar bila MiRNA memiliki banyak faktor yang mengendalikannya. Pengenalan lebih jelas mengenai faktor faktor ini dapat ditemukan pada artikel yang dibuat oleh Davis, *et al.*<sup>38</sup> Pada artikel ini, hanya akan dibahas beberapa bagian dari mekanisme regulasi ini.

Mekanisme regulasi pertama adalah melalui distribusi MiRNA yang spesifik terhadap lokasi dan waktu. Contoh yang paling khas adalah pada MiRNA pertama yang ditemukan yaitu let-7 dan lin-4. Kedua MiRNA ini memiliki pola ekspresi khusus dalam perkembangan *Caenorhabditis elegans* melewati berbagai fase perubahannya.<sup>14,18</sup> Hal ini juga dapat ditemukan pada manusia dan mencit. Sebuah penelitian menemukan bahwa lebih dari 50% MiRNA diekspresikan dengan pola yang spesifik pada jaringan-jaringan tertentu.<sup>39</sup> Sebagai contoh, miR-122 paling sering ditemukan pada jaringan hati, dan miR-124 sangat sering ditemukan pada jaringan otak.<sup>40</sup> Dengan adanya ekspresi spesifik MiRNA yang tergantung dengan lokasi, maka gangguan dari MiRNA ini juga dapat menyebabkan kerusakan lokal pada jaringan tertentu. Hal ini dapat dilihat pada beberapa pola perubahan MiRNA yang berkaitan dengan penyakit-penyakit tertentu seperti *schizophrenia* dan kanker.<sup>41,42</sup>

Regulasi lain dari ekspresi MiRNA adalah pada tingkat transkripsi dari gen MiRNA. Sebagian MiRNA terletak pada gen tersendiri sehingga memiliki promotor yang berbeda dibandingkan dengan gen biasa. Tetapi, beberapa MiRNA terletak pada segmen intron sehingga dapat ikut meningkat atau menurun sesuai dengan ekspresi dari mRNA tempat MiRNA itu berada. Sebagai contoh beberapa MiRNA yang berkaitan dengan otot (myo-miR) seperti miR-208, 208b, dan 499 berada pada segmen intron dari gen *myosin heavy chain* (MHC).<sup>43</sup> Oleh karena itu, ekspresi dari gen MHC juga akan meningkatkan ekspresi dari MiRNA tersebut. Tetapi, walaupun MiRNA terletak dalam segmen intron, tidak berarti MiRNA ini tergantung sepenuhnya pada promotor gen tempat dia berada. Sebuah penelitian menemukan bahwa kurang dari 50% MiRNA ikut diekspresikan dengan gen tempat dia berada.<sup>44</sup> Perbedaan ini diduga terjadi akibat



Review Article

penggunaan promotor yang berbeda. Hal ini dibuktikan dengan studi Corcoran, *et al.*<sup>45</sup> yang menemukan bahwa 1/3 dari RNA di dalam segmen intron ditranskripsikan oleh promotor yang berbeda dari mRNAnya.

Salah satu cara tubuh manusia untuk mengontrol ekspresi dari suatu gen adalah melalui mekanisme yang disebut sebagai pengendalian epigenetik. Hal ini dapat dilihat pada peningkatan jumlah metilasi beberapa lokasi MiRNA pada kanker di sel manusia.<sup>46,47</sup> Sebaliknya, pada kanker paru, terjadi penurunan jumlah metilasi dari kelompok MiRNA let-7a-3 dengan hasil peningkatan transkripsi gen onkogenik.<sup>48</sup> Mekanisme pengaturan epigenetik lain, yaitu melalui *histone deacetylase*, juga mampu mempengaruhi ekspresi MiRNA pada beberapa kanker. Hal ini dibuktikan dari perubahan ekspresi MiRNA dari pemberian penghambat *histone deacetylase*.<sup>49</sup> Dari temuan-temuan ini dapat disimpulkan bahwa MiRNA juga dipengaruhi oleh modifikasi epigenetik, sama seperti mRNA pada umumnya.

Pengendalian terakhir yang akan dibahas pada artikel ini adalah kendali terhadap protein *Drosha* dan *Drosha*, sebagai bagian dari protein seluler yang memegang peranan penting dalam pembuatan MiRNA yang aktif. Hal ini dibuktikan dari penelitian yang berusaha menghilangkan ekspresi dari protein DGCR8, *Drosha*, dan *Drosha* sangat memengaruhi sifat sel.<sup>50</sup> Pada sel kanker paru, hilangnya protein-protein ini meningkatkan kemampuan tumorigenesisnya. Dari temuan ini dapat dilihat bahwa gangguan pada pembentukan MiRNA mempengaruhi fungsi sel secara signifikan. Oleh karena itu, kendali terhadap aktivitas kedua protein ini sangatlah kompleks. Hal ini sangat wajar mengingat kedua protein ini mengontrol pembuatan MiRNA yang mampu mempengaruhi transkripsi gen dan sifat sel di dalam tubuh. Untuk bahasan lebih lanjut mengenai modulasi aktivitas dari kedua protein ini, pembaca dialihkan ke artikel yang ditulis oleh Davis, *et al.*<sup>38</sup> dan Ha, *et al.*<sup>23</sup>.

### **MiRNA dan Hubungannya dengan Penyakit Manusia**

Penemuan MiRNA dengan ekspresi yang spesifik pada jaringan membuat banyak peneliti berusaha menghubungkannya dengan berbagai penyakit. Bahkan uji klinis dari MiRNA juga sedang terjadi untuk melihat penerapan MiRNA sebagai agen terapeutik di penyakit pada manusia. Untuk penjelasan lebih lanjut mengenai penggunaan MiRNA pada berbagai kondisi penyakit, pembaca disarankan untuk membaca ulasan oleh Rupaimoole, *et al.*<sup>1</sup> dan oleh Petrovic, *et al.*<sup>51</sup>. Pada artikel ini, akan diulas beberapa penyakit dan kaitannya dengan MiRNA sebagai pendahuluan dan contoh dari ilmu yang sedang berkembang pesat ini.

### **Aktivitas MiRNA dalam Penyakit Jantung: Infark Myokard Akut**

Pada kondisi *infark myocard*, penelitian menunjukkan penurunan ekspresi kelompok MiRNA dari miR-29. miR-29 diketahui memiliki efek terhadap gen-gen yang berhubungan dengan pembentukan jaringan ikat dan matriks ekstraseluler. Sesuai dengan hal ini, peningkatan ekspresi miR-29 pada fibroblas diketahui meningkatkan ekspresi protein kolagen, dan penghambatan ekspresi miR-29 menghasilkan efek yang sebaliknya.<sup>52</sup> Oleh karena itu, beberapa peneliti mengaitkan ekspresi miR-29 sebagai salah satu faktor yang menyebabkan fibrosis jantung.<sup>2,52</sup> Selain miR-29, miR-24 juga memiliki peranan dalam kondisi infark jantung. Infark jantung ditemukan menurunkan ekspresi dari miR-24 yang diketahui mengontrol ekspresi dari protein Bim untuk mengendalikan fungsi apoptosis pada sel. Peningkatan ekspresi miR-24 mampu mengurangi luas daerah nekrotik pada mencit model infark myocard.<sup>53</sup> Penemuan-penemuan ini hanya sebagian kecil dari hubungan MiRNA terhadap berbagai kondisi jantung. Untuk penjelasan lebih lanjut mengenai hubungan MiRNA dalam penyakit jantung, ada beberapa artikel yang mengulas secara mendalam seperti karya oleh Hata<sup>54</sup> dan Wojciechowska, *et al.*<sup>2</sup>. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa intervensi terhadap MiRNA dapat menjadi alternatif pengobatan yang menjanjikan di masa depan terutama dalam kasus-kasus penyakit jantung. Hal ini juga dapat dilihat dari banyaknya jumlah penelitian preklinis dan klinis untuk melihat efektivitas pengobatan berbasis RNA pada penyakit kardiovaskuler.<sup>55</sup>

### **Aktivitas MiRNA Dalam Penyakit Metabolisme: Diabetes Melitus**

Sebagai salah satu penyakit metabolik, akan sangat menarik bila microRNA terbukti mampu meregulasi penyakit ini. Sebagai contoh, telah ditemukan beberapa MiRNA yaitu miR-15a, miR-15b, dan miR-16 yang berkaitan dengan perkembangan dari pankreas melalui kendali terhadap faktor transkripsi.<sup>56,57</sup> Sebuah penelitian oleh Hennessy, *et al.*<sup>58</sup> menemukan bahwa paparan glukosa tinggi juga mampu mempengaruhi ekspresi berbagai MiRNA pada kultur sel beta pankreas. Perbedaan ekspresi juga terlihat pada sel pankreas yang sensitif terhadap glukosa dibandingkan dengan yang resisten.<sup>58</sup> Pankreas juga mampu beradaptasi terhadap kondisi obesitas dan kehamilan dengan cara penambahan jumlah sel melalui beberapa MiRNA seperti miR-184, miR-338-p, dan miR-375.<sup>59</sup> Selain itu, penelitian juga membuktikan bahwa pada mencit yang mengalami disfungsi dari sel beta pankreas mempunyai pola ekspresi MiRNA yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa MiRNA memegang peranan dalam perkembangan pankreas dan kemungkinan dalam perubahan patologisnya seperti pada diabetes.

Salah satu contoh peran MiRNA dalam diabetes yang paling mencolok adalah peningkatan ekspresi miR-143 yang menimbulkan efek gangguan keseimbangan glukosa.<sup>60</sup> Hal

Review Article

ini diduga karena hambatan aktivasi AKT oleh insulin. MiRNA lain yang juga memiliki efek yang sama adalah miR-103 dan miR-107. Ekspresi kedua MiRNA ini ditemukan meningkat pada pasien yang mengalami resistensi insulin. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa peningkatan MiRNA ini pada sel hepatosit atau adiposit menurunkan jumlah protein *caveolin-1*.<sup>61</sup> Hal ini menyebabkan gangguan aktivasi dari insulin reseptor dengan efek hambatan keseimbangan glukosa. Masih ada banyak MiRNA lain pada berbagai organ yang berkaitan dan mampu mempengaruhi metabolisme glukosa. Bila pembaca ingin membaca ulasan lebih mendalam mengenai MiRNA dan kondisi diabetes melitus, pembaca dapat melihat artikel yang ditulis oleh Regazzi<sup>62</sup>.

Selain berperan dalam patogenesis dan patofisiologi diabetes melitus, MiRNA juga telah diteliti sebagai *biomarker* pada penyakit diabetes. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stress mampu menginduksi sel beta pankreas untuk melepaskan MiRNA ke dalam darah. Hal ini dapat dimonitor untuk mengetahui kondisi pankreas dan status diabetes seseorang. Sebuah penelitian oleh Vasu, *et al.*<sup>63</sup> menjelaskan dengan sangat mendalam pola-pola *biomarker* yang sedang diteliti untuk diabetes. Walaupun reviu terkait topik ini sudah banyak, namun simpulan dan hasil yang sudah bisa diaplikasikan masih sedikit. Hal ini juga disebabkan karena sangat sulit untuk menyetarakan sampel yang akan digunakan untuk pemeriksaan. Selain itu, jumlah MiRNA juga sangat banyak sehingga pola ekspresi dari MiRNA mungkin menjadi lebih penting dibandingkan dengan MiRNA tunggal.

### Aktivitas MiRNA Dalam Penyakit Keganasan

Hubungan MiRNA dengan kasus kanker ditemukan pada tahun 2002 berdasarkan penelitian dari Calin, *et al.*<sup>64</sup>. Penelitian mereka menemukan bahwa pada *chronic lymphocytic leukemia* sel B (B-CLL), lebih dari setengahnya mengalami delesi pada lokasi kromosom 13q14. Delesi ini menghilangkan gen miR-15 dan miR-16 yang memiliki tingkat ekspresi tinggi pada sel CD5+.<sup>64</sup> Temuan ini membuka jalan untuk penelitian lanjutan untuk melihat seberapa dalam pengaruh MiRNA terhadap penyakit kanker. Pada tahun 2004, Calin, *et al.*<sup>65</sup> kembali menemukan bahwa lebih dari setengah gen MiRNA terletak pada *fragile sites* di kromosom. *Fragile sites* adalah lokasi pada kromosom manusia yang sering mengalami kerusakan terutama pada kondisi kanker. Oleh karena itu, dari lokasi saja, MiRNA sudah memiliki hubungan erat dengan kondisi kanker. Temuan ini semakin mendorong fokus penelitian terhadap MiRNA dan kanker dan menemukan berbagai MiRNA dengan fungsi sebagai *tumor suppressor* atau *oncogene*.

Tetapi, walaupun bidang ilmu ini sangat berkembang pesat (lebih dari 50.000 artikel pada pencarian di database MedLINE® dengan kata kunci “*MicroRNA and Cancer*”), masih sangat

Review Article

banyak hal yang belum diketahui. Hal ini disebabkan karena kemampuan MiRNA untuk mengontrol ekspresi lebih dari satu gen atau protein, dengan fungsi yang berbeda tiap sel atau jaringan, dan dengan pengaruh terhadap lebih dari satu jalur pensinyalan. Sebagai contoh, penulis akan mengambil miR-26a yang bila ekspresinya ditingkatkan, mampu menginduksi apoptosis pada sel karsinoma hepatoseluler.<sup>66</sup> Tetapi MiRNA yang sama bila ditingkatkan ekspresinya pada sel kanker paru meningkatkan kemampuan metastasisnya.<sup>67</sup> Hal ini menunjukkan bahwa regulasi MiRNA sangat kompleks dan tidak mudah untuk mengatakan bahwa MiRNA tertentu memiliki efek tunggal sebagai *tumor suppressor* atau *oncogene*.

Selain berperan dalam patofisiologi kanker, MiRNA juga dapat digunakan sebagai *biomarker* untuk deteksi dini kanker. MiRNA pertama kali diketahui cukup stabil pada aliran darah berdasarkan penelitian oleh Mitchell, *et al.*<sup>12</sup>. Mereka mencoba mendonorkan sel kanker antar mencit, dan menemukan bahwa pada mencit penerima sel kanker juga terdapat peningkatan MiRNA yang sama dengan mencit asal sel kanker. Berangkat dari temuan ini, pencarian MiRNA sebagai *biomarker* berkembang pesat. Penggunaan MiRNA sebagai *biomarker* memiliki beberapa keuntungan, antara lain karena cara pengukuran kita yang menggunakan *quantitative polymerase chain reaction* yang sangat sensitif dan mampu mendeteksi kadar MiRNA dalam jumlah sedikit. Hal ini berbanding terbalik dengan deteksi kadar protein yang memiliki batasan deteksi tertentu. Keuntungan ini menyebabkan sangat banyak penelitian yang mendalami penggunaan MiRNA sebagai *biomarker* pada kondisi kanker. Untuk penjelasan lebih mendalam mengenai penggunaan MiRNA sebagai *biomarker* dapat dilihat pada karya oleh Mishra, *et al.*<sup>68</sup> dan Madhavan, *et al.*<sup>69</sup>.

Peran sentral MiRNA pada kanker juga menjadi perhatian untuk intervensi terapeutik. Sebagai contoh, pada kanker yang mengalami kekurangan dari MiRNA dengan fungsi *tumor suppressor* dapat diberikan pengobatan menggunakan MiRNA *mimic* yang menyerupai dan memiliki sifat yang sama dengan MiRNA asli. Tantangan utama yang dihadapi dalam pembuatan obat berbasis MiRNA adalah sulitnya mengantarkan obat ke target sel yang dituju. Selama ini MiRNA dibuat menggunakan *liposome* atau alat khusus lain yang desain untuk menghantarkan ke sel spesifik. Salah satu MiRNA yang sudah memasuki fase uji klinis tahap satu adalah miR-34 (NCT01829771). MiR-34 *mimics* yang dibawa menggunakan *nanoparticle* atau *liposome* mampu menunjukkan hasil yang sangat menjanjikan pada model kanker hati, prostat, dan paru<sup>1,70</sup> pada mencit. Hal ini juga tidak disertai adanya efek samping berarti akibat penggunaan molekul-molekul pembawa MiRNA tersebut. Masih ada sangat banyak MiRNA yang sedang dalam perkembangan<sup>1</sup>. Harapannya di masa depan, MiRNA dapat menjadi alternatif pengobatan yang mampu mengatasi kanker secara patofisiologinya yaitu pada molekul yang abnormal. Oleh karena

Review Article

itu, topik penelitian untuk mengeksploitasi peran MiRNA untuk menekan pertumbuhan tumor masih menjadi topik utama.

### Simpulan

MicroRNA (MiRNA) adalah RNA dengan urutan basa pendek yang tidak mengode protein. Walaupun tidak mengode protein, MiRNA memiliki efek yang sangat luas dalam pengaturan fungsi tubuh. MiRNA memiliki dua jalur pembuatan di dalam sel, dengan dua langkah pematangan pada nukleus (menghasilkan pri-MiRNA) dan pada sitoplasma (menghasilkan MiRNA aktif). Dua kompleks protein utama yang berperan dalam pematangan MiRNA adalah *Drosha* pada nukleus dan *Drosha* pada sitoplasma. Kerusakan pada protein ini memiliki pengaruh yang besar pada sel, seperti peningkatan kemampuan tumorigenik. Hal ini menunjukkan seberapa pentingnya pengaturan MiRNA di dalam sel. Oleh karena itu, MiRNA memiliki sistem regulasi yang sangat kompleks untuk menjaga keseimbangan di dalam sel.

Mencerminkan pengaruhnya yang besar pada sel, MiRNA telah dibuktikan memiliki banyak hubungan terhadap berbagai penyakit manusia. Pada kondisi *infark myocard*, MiRNA diketahui mampu mempengaruhi lokasi fibrosis akibat jejas hipoksia. MiRNA juga memegang peranan penting dalam patofisiologi penyakit diabetes dan kanker. Peranan penting MiRNA ini telah menjadi fokus penelitian untuk jalur intervensi baru dan sebagai *biomarker* spesifik untuk deteksi dini dari suatu penyakit. Melalui temuan-temuan ini, dapat disimpulkan bahwa walaupun ukurannya sangat kecil, kemampuan MiRNA dapat mempengaruhi organisme secara keseluruhan.

### Daftar Pustaka

1. Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;16(3):203-222.
2. Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kaminska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26(5):865-874.
3. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2016;1(1):15004.
4. Woods K, Thomson JM, Hammond SM. Direct regulation of an oncogenic micro-RNA cluster by E2F transcription factors. *J Biol Chem.* 2007;282(4):2130-2134.
5. Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. *Cancer Res.* 2007;67(13):6130-6135.
6. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell.* 2006;9(3):189-198.
7. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res.* 2005;65(16):7065-7070.
8. Bai JW, Xue HZ, Zhang C. Down-regulation of microRNA-143 is associated with colorectal cancer progression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(22):4682-4687.
9. Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res.* 2008;68(2):425-433.
10. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, Bugnar OL, Boboc A, Cretoiu D, et al. miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. *Cells.* 2020;9(2).

Review Article

11. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;141(5):672-675.
12. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(30):10513-10518.
13. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(12):5003-5008.
14. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell.* 1993;75(5):855-862.
15. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993;75(5):843-854.
16. Ruvkun G, Wightman B, Ha I. The 20 years it took to recognize the importance of tiny RNAs. *Cell.* 2004;116(2 Suppl):S93-96, 92 p following S96.
17. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 2000;403(6772):901-906.
18. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature.* 2000;408(6808):86-89.
19. Slack FJ, Basson M, Liu Z, Ambros V, Horvitz HR, Ruvkun G. The *lin-41* RBCC gene acts in the *C. elegans* heterochronic pathway between the *let-7* regulatory RNA and the *LIN-29* transcription factor. *Mol Cell.* 2000;5(4):659-669.
20. Grad Y, Aach J, Hayes GD, Reinhart BJ, Church GM, Ruvkun G, et al. Computational and experimental identification of *C. elegans* microRNAs. *Mol Cell.* 2003;11(5):1253-1263.
21. Griffiths-Jones S. miRBase: The MicroRNA Sequence Database. In: *MicroRNA Protocols.* 2006:129-138.
22. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J.* 2002;21(17):4663-4670.
23. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(8):509-524.
24. Westholm JO, Lai EC. Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing. *Biochimie.* 2011;93(11):1897-1904.
25. Vishnoi A, Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. In: *MicroRNA Profiling.* 2017:1-10.
26. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature.* 2007;448(7149):83-86.
27. Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell.* 2007;130(1):89-100.
28. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.* 2003;17(24):3011-3016.
29. Okada C, Yamashita E, Lee SJ, Shibata S, Katahira J, Nakagawa A, et al. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science.* 2009;326(5957):1275-1279.
30. Zhang H, Kolb FA, Jaskiewicz L, Westhof E, Filipowicz W. Single processing center models for human Dicer and bacterial RNase III. *Cell.* 2004;118(1):57-68.
31. Park JE, Heo I, Tian Y, Simanshu DK, Chang H, Jee D, et al. Dicer recognizes the 5' end of RNA for efficient and accurate processing. *Nature.* 2011;475(7355):201-205.
32. Iwasaki S, Kobayashi M, Yoda M, Sakaguchi Y, Katsuma S, Suzuki T, et al. Hsc70/Hsp90 chaperone machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. *Mol Cell.* 2010;39(2):292-299.
33. Kawamata T, Seitz H, Tomari Y. Structural determinants of miRNAs for RISC loading and slicer-independent unwinding. *Nat Struct Mol Biol.* 2009;16(9):953-960.
34. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009;136(2):215-233.
35. Yekta S, Shih IH, Bartel DP. MicroRNA-directed cleavage of *HOXB8* mRNA. *Science.* 2004;304(5670):594-596.
36. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature.* 2005;433(7027):769-773.
37. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008;9(2):102-114.
38. Davis BN, Hata A. Regulation of MicroRNA Biogenesis: A miRiad of mechanisms. *Cell Commun Signal.* 2009;7(1):18.
39. Lee EJ, Baek M, Gusev Y, Brackett DJ, Nuovo GJ, Schmittgen TD. Systematic evaluation of microRNA processing patterns in tissues, cell lines, and tumors. *RNA.* 2008;14(1):35-42.
40. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol.* 2002;12(9):735-739.
41. Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol.* 2009;4(1):199-227.
42. Cao T, Zhen XC. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(7):586-597.
43. van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. *Trends Genet.* 2008;24(4):159-166.

Review Article

44. Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*. 2005;11(3):241-247.
45. Corcoran DL, Pandit KV, Gordon B, Bhattacharjee A, Kaminski N, Benos PV. Features of mammalian microRNA promoters emerge from polymerase II chromatin immunoprecipitation data. *PLoS One*. 2009;4(4):e5279.
46. Lujambio A, Esteller M. How epigenetics can explain human metastasis: a new role for microRNAs. *Cell Cycle*. 2009;8(3):377-382.
47. Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, Ropero S, Sanchez-Cespedes M, Blanco D, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(36):13556-13561.
48. Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, Mund C, Musch T, Meister M, et al. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res*. 2007;67(4):1419-1423.
49. Scott GK, Mattie MD, Berger CE, Benz SC, Benz CC. Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res*. 2006;66(3):1277-1281.
50. Kumar MS, Lu J, Mercer KL, Golub TR, Jacks T. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nat Genet*. 2007;39(5):673-677.
51. Petrovic N, Ergun S. miRNAs as Potential Treatment Targets and Treatment Options in Cancer. *Mol Diagn Ther*. 2018;22(2):157-168.
52. van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, DiMaio JM, Naseem RH, Marshall WS, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(35):13027-13032.
53. Qian L, Van Laake LW, Huang Y, Liu S, Wendland MF, Srivastava D. miR-24 inhibits apoptosis and represses Bim in mouse cardiomyocytes. *J Exp Med*. 2011;208(3):549-560.
54. Hata A. Functions of microRNAs in cardiovascular biology and disease. *Annu Rev Physiol*. 2013;75(1):69-93.
55. Huang CK, Kafert-Kasting S, Thum T. Preclinical and Clinical Development of Noncoding RNA Therapeutics for Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2020;126(5):663-678.
56. Joglekar MV, Parekh VS, Mehta S, Bhonde RR, Hardikar AA. MicroRNA profiling of developing and regenerating pancreas reveal post-transcriptional regulation of neurogenin3. *Dev Biol*. 2007;311(2):603-612.
57. Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, Braun M, Collins S, Rorsman P, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(14):5813-5818.
58. Hennessy E, Clynes M, Jeppesen PB, O'Driscoll L. Identification of microRNAs with a role in glucose stimulated insulin secretion by expression profiling of MIN6 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;396(2):457-462.
59. Jacovetti C, Abderrahmani A, Parnaud G, Jonas JC, Peyot ML, Cornu M, et al. MicroRNAs contribute to compensatory beta cell expansion during pregnancy and obesity. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3541-3551.
60. Jordan SD, Kruger M, Willmes DM, Redemann N, Wunderlich FT, Bronneke HS, et al. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism. *Nat Cell Biol*. 2011;13(4):434-446.
61. Trajkovski M, Hausser J, Soutschek J, Bhat B, Akin A, Zavolan M, et al. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature*. 2011;474(7353):649-653.
62. Regazzi R. MicroRNAs as therapeutic targets for the treatment of diabetes mellitus and its complications. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(2):153-160.
63. Vasu S, Kumano K, Darden CM, Rahman I, Lawrence MC, Naziruddin B. MicroRNA Signatures as Future Biomarkers for Diagnosis of Diabetes States. *Cells*. 2019;8(12).
64. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-15529.
65. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(9):2999-3004.
66. Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW, et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. *Cell*. 2009;137(6):1005-1017.
67. Liu B, Wu X, Liu B, Wang C, Liu Y, Zhou Q, et al. MiR-26a enhances metastasis potential of lung cancer cells via AKT pathway by targeting PTEN. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1822(11):1692-1704.
68. Mishra S, Yadav T, Rani V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;98:12-23.
69. Madhavan D, Cuk K, Burwinkel B, Yang R. Cancer diagnosis and prognosis decoded by blood-based circulating microRNA signatures. *Front Genet*. 2013;4:116.
70. Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, Patrawala L, Brown D, et al. Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Res*. 2010;70(14):5923-5930.