

بررسی نقش میکرو RNA ها در بازسازی اندام‌های آسیب دیده در ماهی زبرا

احمد علی بدر

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران

*نویسنده مسئول badr713@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۳

چکیده

موضوع بازسازی بافت به دلیل ماهیت جذاب و کاربردهای بالقوه آن در بیماری‌های انسانی همواره در کانون توجه تحقیقات قرار داشته است. تعیین مکانیسم‌های سلولی و مولکولی دخیل در فرآیند بازسازی در موجودات مدلی که به خوبی بازسازی را انجام می‌دهند، می‌تواند به ما در توسعه راهبردهایی برای ترمیم و بازسازی بافت در گونه‌هایی مانند انسان که قابلیت بازسازی پایینی دارند کمک کند. میکرو RNA ها، RNA های کوچک غیر کد کننده‌ای هستند که با القاء بیان بیش از حد یا مهار، نقش اساسی در کنترل بیان ژن‌هایی که فرآیند بازسازی بافت را هدایت می‌کنند، را دارند. آزمایش‌های مختلفی جهت شناسایی انواع میکرو RNA هایی که پاسخ‌های بازسازی را هدایت می‌کنند انجام شده است. به دلیل توانایی استثنایی ماهی زبرا (*Danio rerio*) در فرآیند خود ترمیمی بافت‌های آسیب دیده، این مدل به عنوان محور تحقیقات بازسازی بافت مورد توجه قرار گرفته است. در این بررسی، ما قصد داریم آخرین یافته‌ها در خصوص تأثیر میکرو RNA ها بر فرآیند بازسازی باله، قلب و شبکه چشم ماهی زبرا از طریق تنظیم بیان ژن را مرور کنیم. همچنین چشم‌انداز آینده و پتانسیل توسعه بیشتر این زمینه تحقیقاتی جذاب مورد بحث قرار خواهد گرفت.

واژگان کلیدی: میکرو RNA، بازسازی، بیان ژن، ماهی زبرا.

مقدمه

گزارش‌های منتشر شده در قرن هجده حاکی از آن است که سمندرها می‌توانند دم و پاهای خود را بازسازی کنند و شکم‌پایان حتی قادر هستند سر خود را بازسازی نمایند (Tsonis and Fox, 2009). پژوهش‌های حاضر عمدتاً بر درک چگونگی انجام ذاتی این فرآیند، مکانیسم‌های سلولی و مولکولی آن توأم با زمینه در حال گسترش سلول‌های بنیادی و کاربردهای آن برای پزشکی بازساختی تمرکز دارند (Mehta and Singh, 2019). در حالی که توانایی بازسازی به‌طور گسترده‌ای در سلسله حیوانات متفاوت است (Bely and Nyberg, 2010) اما برنامه ژنتیکی اصلی برخی از وقایع مانند بازسازی پاهای چهار اندامان و باله‌های ماهیان شش‌دار در طی تکامل حفظ شده است (Nogueira et al., 2016). در بین چهار اندامان، دوزیستان به دلیل پتانسیل بازسازی، رشد مجدد پاها، آرواره‌ها، چشم‌ها و سایر اجزای بدن معروف هستند. همچنین ماهی استخوانی قابلیت بازسازی و رشد مجدد باله‌ها، نخاع، بافت مغز، چشم و

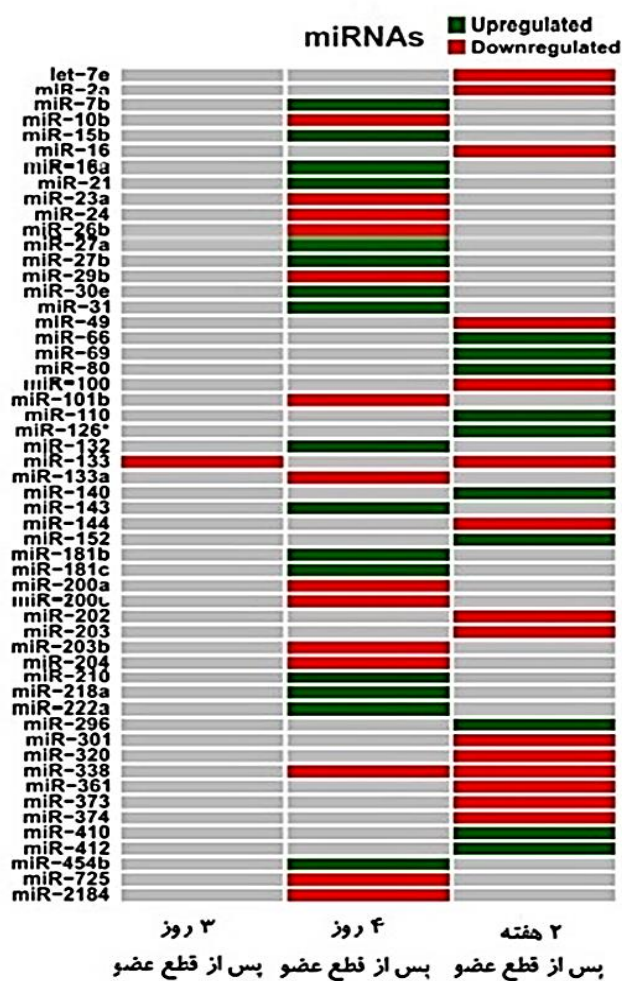
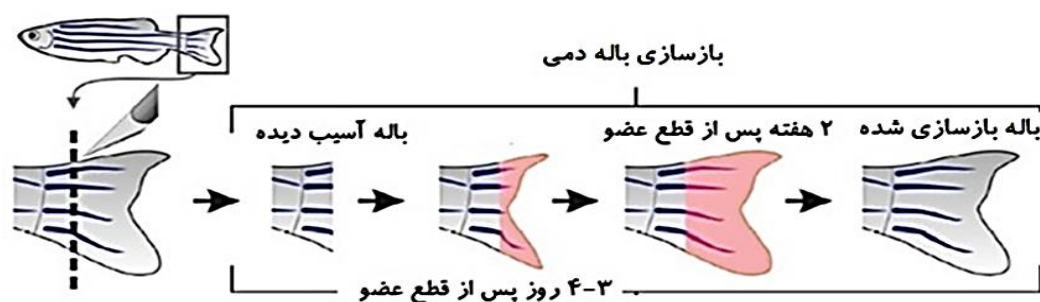
فرآیند بازسازی یکی از پدیده‌های جالب در طبیعت است. در دهه گذشته، قابلیت بازسازی یک ساختار آسیب دیده یا از دست رفته یکی از موضوعات مهم و مورد توجه دانشمندان بوده است. درک این فرآیند مهم ممکن است به طور بالقوه به درمان مشکلات پزشکی ناشی از آسیب بافتی، جراحات، سرطان، پیری و غیره منجر شود (Safian et al., 2021). مطالعات در بر گیرنده راهبرد جهت جایگزینی بافت و اندام‌های آسیب دیده مستلزم انجام پژوهش‌های بین رشته‌ای به عنوان پلی بین زیست‌شناسی تکوینی و مطالعات بالینی است. یک راه متداول برای مطالعه فرآیند بازسازی، القاء آسیب تجربی به حیوانات مدل است جهت مشاهده اینکه آن‌ها با چه مکانیسمی بافت آسیب دیده را ترمیم می‌کنند (Chowdhury et al., 2022). پاسخ به آسیب بافتی و توانایی بازسازی در بین گونه‌های مختلف حیوانی متفاوت است (Marques et al., 2019).

التهاب زخم، تمایززدایی، تکثیر و دگر تمایزی سلول‌هایی که بافت بازسازی شده را تشکیل می‌دهند (Hui *et al.*, 2014; Demirici *et al.*, 2020). این پروفایل‌ها نشان‌دهنده ژن‌هایی است که فرآیند بازسازی را کنترل کرده و در بین چندین بافت مشترک هستند. برای مثال در سمندر آبی، یک مجموعه مشترک با بیش از ۱۷۰ ژن یافت شده که در فرآیند ترمیم پنج بافت مختلف به طور معنی‌داری بیان آن‌ها افزایش یافته است و این نشان‌دهنده وجود یک عامل ویژه مولکولی است که پروتئین‌های متالو پروتئیناز ماتریکس، اجزای ماتریکس خارج سلولی، دینامیک اسکلت سلولی و چندین فاکتور ایمنی را کنترل می‌کند (Mercer *et al.*, 2012). در مقابل، پروفایل رونویسی تمایز در طول فرآیند بازسازی و در بین بافت‌های بازسازی کننده مجزا نشان دهنده این است که تنظیم بیان ژن به صورت مرحله‌ای و در بافت‌های خاصی انجام می‌شود.

کنترل دقیق بیان ژن در طی تکامل و از طریق بروز دسته‌ای از RNA های کوچک غیر کد کننده به نام میکرو RNA ها انجام شده است. این مولکول‌های کوچک (تقریباً ۲۲ نوکلئوتید) در همه جانوران پر سلولی و در سطح پس از رونویسی بیان می‌شوند. در حال حاضر، میکرو RNA ها به عنوان مولکول‌های مشارکت کننده در تنظیم زمان رشد، تکثیر سلولی، چرخه سلولی، حفظ پرتوانی سلولی، تمایز سلولی، تنظیم بیان ژن شبکه‌ها و حفظ استحکام فنوتیپی در بین سایر عملکردهای سلولی شناخته می‌شوند (Bartel, 2018). علاوه بر این در سایر پژوهش‌های پیشین به نقش میکرو RNA ها در ناباروری (Badr, 2021)، تشخیص بیماری‌ها (Badr, 2021)، سرطان (Badr, 2021)، مقاومت دارویی (Badr, 2015) و فرآیند اسپرماتوزن (Badr, 2014) اشاره شده است. در بیشتر موارد، میکرو RNA ها به جایگاه‌های خاصی از منطقه غیر ترجمه شونده RNA پیامبر (3'UTR) هدف متصل شده و بیان ژن را مهار یا کاهش می‌دهند. آن‌ها می‌توانند دسترسی ژن به ماشین رونویسی را از

قلب را دارد. در مورد خزندگان، گزارش‌هایی در مورد فرآیند بازسازی دم مارمولک، دم و آرواره تمساح و پوسته لاک‌پشت منتشر شده است (Alibardi, 2010). پستانداران به طور مداوم برخی از انواع سلول‌ها (مانند سلول‌های خون، اپیتلیوم روده و سلول‌های پوست) را بازسازی کرده و تعداد محدودی از بافت‌ها (مانند ماهیچه، بافت عصبی و کبد) را ترمیم می‌کنند اما قادر به بازسازی اندام‌های دست و پا نیستند. همان‌طور که موارد بالا نشان می‌دهند حتی برای گروه‌هایی که پتانسیل بازسازی را نشان می‌دهند، قابلیت بازسازی در بین ساختارهای مختلف بدن متفاوت است. بازسازی بافت ممکن است متکی بر فرآیندهایی با پیچیدگی کمتر (مانند رشد آکسون، تکثیر سلولی و تمایز سلول‌های بنیادی بالغ) و مکانیسم‌های با پیچیدگی بیشتر که در فرآیندهای تمایز زدایی، تمایز مجدد سلولی و دگرتمایزی دخالت دارند، باشد که در مجموع به عنوان "بازسازی اپی‌مورفیک" شناخته می‌شوند (Londono *et al.*, 2018). بازسازی اپی‌مورفیک از طریق تشکیل بلاستوما بوقوع می‌پیوندد که ساختاری متشکل از جمعیت‌های سلولی ناهمگن است که قادر به تکثیر، مهاجرت و تمایز می‌باشد (Laplace *et al.*, 2021). در حقیقت، بلاستوما توده‌ای متشکل از سلول‌های محدود به دودمان است که از طریق چندین فرآیند مانند تمایز زدایی، دگر تمایزی و مهاجرت سلول‌های بنیادی بالغ تشکیل شده است (Londono *et al.*, 2018; Leigh *et al.*, 2018). با چند استثناء می‌توان گفت فرآیند بازسازی اپی‌مورفیک معمولاً در پستانداران مشاهده نمی‌شود (Seifert and muneoka, 2018).

بافت‌های در حال بازسازی، علاوه بر پاسخ‌های سلولی تحت تأثیر یک سری تغییرات مولکولی قرار می‌گیرند. پروفایل‌های رونویسی بافت‌های سالم در مقایسه با بافت‌های آسیب دیده خوشه‌های ژنی بیان شده مجزایی را نشان می‌دهند و این نشان دهنده وجود عوامل مولکولی است برای کنترل پاسخ به



شکل ۱- میکرو RNA های دخیل در مراحل مختلف بازسازی باله دمی ماهی زبرا (Amanda et al., 2021).

جاندارانی مانند ماهیان استخوانی و دوزیستان توانایی بازسازی بافت‌ها و اندام‌های مختلف بدن را دارند در حالی که پستانداران از این نظر محدود هستند (Cao et al., 2021). ماهی زبرا دارای ظرفیت بازسازی قابل توجهی است و به یکی از گسترده‌ترین مدل‌های مهره‌داران در زمینه مطالعات بازسازی تبدیل شده است. همچنین به واسطه توانایی بالای ماهی زبرا در بازسازی بافت‌های آسیب دیده مختلف و ساختارهایی مانند کلیه (Kamei and

طریق بازآرایی کروماتینی مختل کنند، شکست mRNA را از طریق کاهش پایداری آن القا کنند، از اتصال mRNA به ریبوزوم جلوگیری کنند (Chendrimada et al., 2007)، و یا حتی می‌توانند پروتئین تازه سنتز شده را تجزیه کنند. با این وجود میکرو RNA ها مولکول‌های چند منظوره‌ای بوده که قادر هستند از طریق اتصال به جایگاه 5'UTR مولکول mRNA، بیان برخی از ژن‌های هدف را افزایش دهند (Vasudevan et al., 2007).

فرآیند بازسازی را فراهم می‌کند. در یک مطالعه انجام شده، پروفایل رونویسی بازسازی باله دمی در ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از قطع عضو آنالیز شده و در نتیجه آن ۸۲۹ رونوشت شناسایی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنظیم افتراقی بیان ژن‌ها در سطح رونویسی، ترجمه و حتی پس از سنتز پروتئین انجام می‌شود.

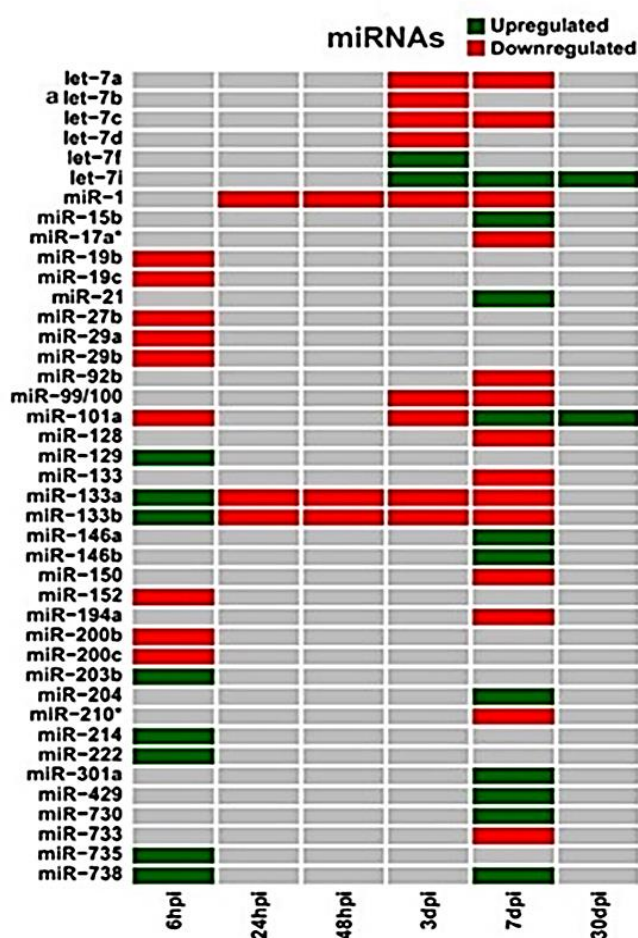
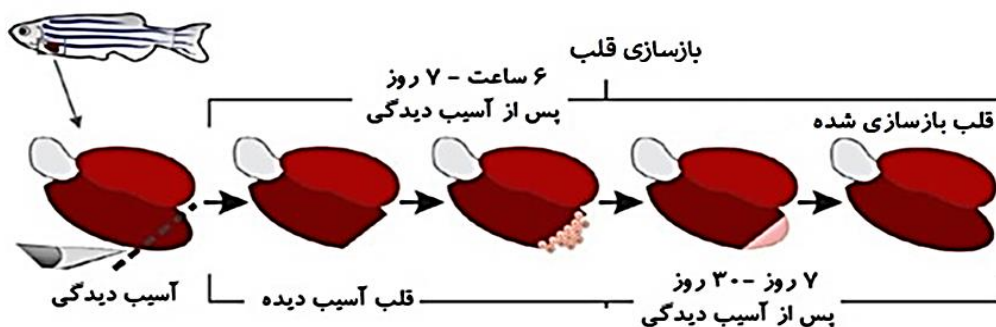
در حقیقت، تغییرات هیستونی (Stewart et al., 2009) و متیلاسیون DNA (Lee et al., 2020) که در طی فرآیند بازسازی انجام می‌شود به عنوان وسیله‌ای جهت خاموش کردن یا فعال کردن بیان ژن است. نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که میکرو RNA ها در مرحله خاصی از فرآیند بازسازی نقش دارند. همچنین محققین ۲۲ میکرو RNA را شناسایی کرده‌اند که تحت تأثیر مسیر پیام‌رسانی فاکتور رشد فیبروبلاست (Fgf) قرار دارند و ۶ تا از آن‌ها به طور مثبت و ۱۶ تا به طور منفی تنظیم می‌شوند. مسیر پیام‌رسانی Fgf برای تشکیل بلاستوما ضروری است (Whitehead et al., 2005) و این نشان‌دهنده وجود یک پیوند عملکردی بین این میکرو RNA ها و فرآیند بازسازی است. در بین آن‌ها یک میکرو RNA یعنی mir-133 که در تکوین عضلات و تمایز عصبی نقش دارد توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. mir-133 در باله‌های آسیب ندیده به شدت بیان می‌شود اما در طی فرآیند بازسازی باله آسیب دیده میزان بیان آن به میزان ۵/۶ برابر کاهش می‌یابد.

دانشمندان دریافته‌اند که در شرایط نرمال، اهداف پیش‌بینی شده میکرو RNA هایی که در طول فرآیند بازسازی به شدت به صورت بالا یا پایین تنظیم می‌شوند بیان آن‌ها تعدیل شده بود (Thatcher et al., 2008; Adams, 2016). شکل ۱ انواع میکرو RNA را نشان می‌دهد که بیان آن‌ها در مقاطع زمانی مهمی از فرآیند بازسازی باله دمی مایه زبرا به صورت بالا یا پایین تنظیم می‌شود. هنگام مقایسه پروفایل بیان ژن یا میکرو RNA از مطالعات مختلف در مورد

(Drummond, 2014)، کبد (He et al., 2014)، باله نخاع (Shibata et al., 2016; Cao et al., 2016)، مو (Mokalled, 2016)، (Lucini et al., 2018)، قلب (Bise et al., 2020)، مغز و شبکه چشم (Lahne et al., 2021)، به عنوان یک مدل موفق در زمینه تحقیقات زیست‌شناسی باز ساختی محسوب می‌شود. با وجود اینکه تعدادی از موجودات دیگر در مطالعات بازسازی استفاده شده‌اند اما ماهی زبرا با توجه به داشتن طیف وسیعی از ابزارهای ژنتیکی و مولکولی در دسترس مانند ژنوم توالی‌یابی شده، تراریختی و ابزارهای هدف‌گیری ژن به عنوان یک مدل ارزشمند و چند منظوره محسوب می‌شود (Zhu and Xiong, 2018).

با در نظر گرفتن نقش تنظیم‌کنندگی میکرو RNA ها و پتانسیل بسیار بالای ماهی زبرا در فرآیند بازسازی، در اینجا ما آخرین یافته‌های علمی در خصوص نقش تنظیم‌کنندگی میکرو RNA ها در فرآیند بازسازی باله دمی، قلب و شبکه چشم ماهی زبرا را خلاصه کرده و در یک نگاه کلی وضعیت موجود این زمینه تحقیقاتی جذاب را مرور خواهیم کرد. با توجه به اهمیت پزشکی و در دسترس بودن داده‌های مربوط به بازسازی باله، قلب و شبکه چشم ماهی زبرا، تمرکز ما بیشتر بر نقش میکرو RNA ها در بازسازی بافت‌های مذکور خواهد بود. در نهایت ما به طور خلاصه در مورد چشم‌انداز آینده، جهت‌ها و پتانسیل توسعه این موضوع پژوهشی بحث خواهیم کرد.

بازسازی باله دمی ماهی زبرا: باله‌های ماهی زبرا مدل‌های جالبی برای بررسی فرآیند پیچیده بازسازی هستند. اگر چه باله‌ها به لحاظ آناتومی ساختار ساده‌ای دارند اما فرآیند بازسازی آن‌ها در برگزیده جایگزینی هماهنگ چندین بافت مانند استخوان، اپیدرم، عروق خونی، اعصاب، همبند و حتی رنگدانه است (Uemoto et al., 2020). پروفایل بیان ژن در مراحل مختلف بازسازی باله دمی تغییرات سلولی و ریختی را حمایت کرده و با این کار اساس مولکولی



شکل ۲- میکرو RNA های دخیل در مراحل مختلف بازسازی قلب ماهی زبرا (Amanda *et al.*, 2021).

بالغ توان محدودی در بازسازی عضله قلبشان دارند، ماهی زبرا می‌تواند قلب خود را پس از آسیب شدید میوکارد بازسازی کرده و عملکرد آن را بازیابی نماید (Vivien *et al.*, 2016). در حقیقت ماهی زبرا می‌تواند قلب آسیب دیده خود را پس از قطع عضو به میزان ۲۰ درصد و یا پس از نکرورز القاء شده (Gonzalez *et al.*, 2011)، توسط شوک سرمایی و یا حتی پس از نقص ژنتیکی بازسازی نماید. پس از آسیب قلبی، سلول‌های کاردیومیست ماهی زبرا چرخه

بازسازی باله دمی ماهی زبرا کمی احتیاط لازم است زیرا ممکن است همان مرحله بازسازی در مقاطع زمانی متفاوتی از مطالعات مختلف ایجاد شده باشد. جهت تشریح نقش‌های اختصاصی این مولکول‌های کوچک در تنظیم اهدافشان مطالعات بیشتری باید انجام شود و این پایه‌ای برای توسعه درمان‌های مبتنی بر میکرو RNA برای بازسازی ساختارهای پیچیده در پستانداران است.

بازسازی قلب ماهی زبرا: در حالی که پستانداران

(Wang *et al.*, 2020). Fbxw7 یک فاکتور تنظیم کننده چرخه سلولی است که در تکثیر و تمایز سلولی از طریق تجزیه پروتئین‌های c-myc و Notch دخالت دارد (Ishikawa, 2013). با توجه به اینکه تکثیر کاردیومیست‌ها یک مرحله حیاتی در فرآیند بازسازی محسوب می‌شود، محققان مذکور به این نتیجه رسیدند که mir-25 یک مولکول امیدوار کننده برای راهبردهای بازسازی قلب است.

شکل ۲ انواع مختلف میکرو RNA ها که در مقاطع زمانی مهم از فرآیند بازسازی قلب ماهی زبرا افزایش و یا کاهش بیان داشته‌اند را نشان می‌دهد. جهت درک رابطه بین این میکرو RNA ها و اهدافشان در پستانداران، لازم است استراتژی‌های درمانی مبتنی بر میکرو RNA ها برای افرادی که مبتلا به آسیب‌های قلبی هستند طراحی گردد. جهت درک بهتر پایه مولکولی فرآیند بازسازی قلب، اتخاذ راهبردهای درمانی مناسب و استفاده از فناوری‌های نوین در سطح بالینی باید پژوهش‌های بیشتری انجام شود.

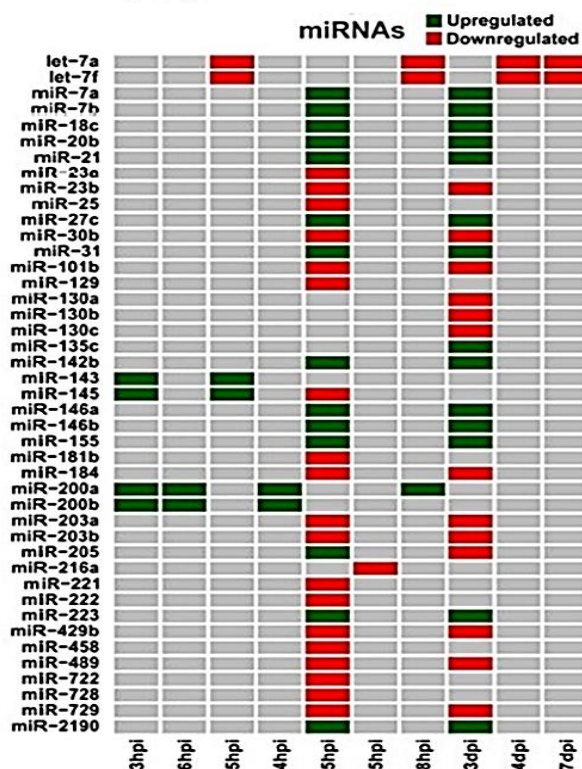
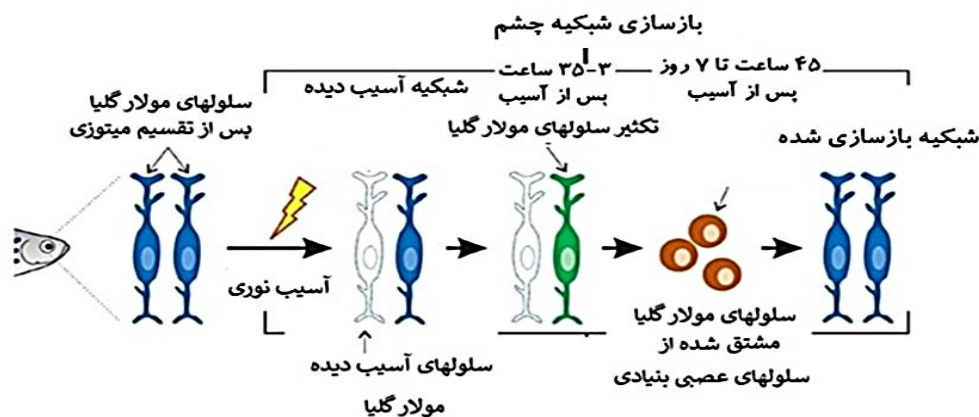
بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا: بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا معمولاً از طریق دو فرآیند مهم برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های گلیالی مولر و سلول‌های اپیتلیال رنگدانه شده و فعال‌سازی سلول‌های پیش ساز قرار گرفته در ناحیه جسم مژگانی چشم صورت می‌گیرد (Barbosa *et al.*, 2012). در ماهی زبرا سلول‌های گلیالی مولر مهمترین نوع سلول‌های گلیال شبکه چشم هستند. سلول‌های تمایز زدایی شده قابلیت چند توانی به دست آورده و دوباره وارد چرخه سلولی می‌شوند. این سلول‌ها در لایه هسته‌ای داخلی تکثیر یافته و سلول‌های پیش‌ساز نرونی را تولید می‌کنند که این سلول‌ها نیز تقسیمات سلولی را ادامه داده، به لایه هسته‌ای خارجی مهاجرت کرده و در آنجا به گیرنده‌های نوری تمایز می‌یابند (Goldman, 2014). اگر چه سلول‌های گلیالی مولر در چشم پستانداران نیز یافت می‌شوند اما پستانداران توانایی محدودی در بازسازی شبکه چشم دارند. آسیب به

سلولی و تکثیر سلولی را دوباره راه اندازی کرده و جهت بازیابی عملکرد اندام آسیب دیده توده‌ای سلولی را شکل می‌دهند (Jopling *et al.*, 2010; Kikuchi *et al.*, 2010).

این فرآیند نیازمند شبکه مولکولی تنظیمی پیچیده همراه با پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک غیر کد کننده RNA یعنی میکرو RNA ها است (Kikuchi, 2014). Yin و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که کاهش بیان mir-133 باعث تحریک تکثیر سلول‌های کاردیومیست شده و در نتیجه میزان بازسازی قلب در ماهی زبرا را از طریق افزایش بیان ژن‌های هدف آن mps1 و Cx43 بهبود می‌بخشد. نتایج پژوهش‌های آن‌ها نشان داده است که میکرو RNA های mir-1, mir-133a و mir-133b با شروع فرآیند بازسازی سلول‌های قلبی مرتبط بوده و به محض اینکه بافت قلبی شروع به بازیابی و بهبود کند میزان بیان آن‌ها به سطح پایه برگشته و هر دو فرآیند تکثیر سلولی و بازسازی سلولی را مسدود می‌کنند (Yin *et al.*, 2012; Ceci *et al.*, 2018).

یکی از مراحل حیاتی برای بازسازی قلب، مرحله تمایز زدایی سلولی است که شامل برگشت یک سلول کاملاً تمایز یافته به حالت کمتر تمایز یافته از دودمان خودش است (Jopling *et al.*, 2011). در قلب ماهی زبرا در حال بازسازی، سلول‌های کاردیومیست بالغ موجب بیان نشانگر جنینی gata4 چند روز پس از ایجاد آسیب می‌شوند که این در نتیجه افزایش فسفوریلاسیون هیستون شماره ۳ و بیان دوباره آنتی ژن هسته‌ای سلول در حال تکثیر (PCNA) است و این نشان‌دهنده تمایز زدایی و تکثیر سلول‌های کاردیومیست است.

اخیراً ونگ و همکاران (۲۰۲۰)، نشان دادند که mir-25 نیز به عنوان یک پروموتور تکثیر سلولی در سلول‌های کاردیومیست به دست آمده از سلول‌های بنیادی جنینی انسان با تأثیر بر فاکتور تنظیم کننده چرخه سلولی یعنی Fbxw7 اندازه و تعداد کاردیومیست‌های ماهی زبرا را افزایش می‌دهد



شکل ۳- میکرو RNA های دخیل در مراحل مختلف بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا (Amanda et al., 2021).

دادند که در غیاب میکرو RNA ها، فرآیند بازسازی به طور قابل ملاحظه‌ای مهار می‌شود (Rajaram et al., 2014). در ماهی زبرا که میزان بیان دایسر در آن کاهش یافته، تعداد سلول‌های در حال تکثیر نورونی مشتق شده از گلیال مولر در طی فرآیند بازسازی پس از القاء آسیب به چشم کاهش می‌یابد، اگر چه تمایز زدایی و تکثیر سلول‌های گلیال مولر به طور چشمگیری تحت تأثیر قرار نگرفت. این مطالعه اولین موردی بود که جزئیات تغییرات دینامیکی بیان میکرو RNA در طی فرآیند بازسازی ماهی زبرا را ارائه کرد. در مطالعه بعدی، پژوهشگران دریافتند که برای تکثیر

شبکه چشم آن‌ها به طور معمول باعث هیپرتروفی، تکثیر سلولی و ایجاد زخم گلیالی می‌شود (Bringmann et al., 2009). تعدادی از مطالعات انجام شده به درک بهتر تعدادی از پروتئین‌ها و مسیرهای پیام رسانی برای بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا (Goldmann, 2014; Wan and Goldman, 2016) کمک کرده‌اند و جنبه‌های مهم مربوط به مکانیسم‌های این فرآیند در حال روشن شدن است.

Rajaram و همکاران (۲۰۱۴) با استفاده از مورفولینو جهت خاموش کردن دایسر (Dicer) نشان

که قبلاً نقش این میکرو RNA در تنظیم بیان ژن Pax6 در موش تایید شده است. بنابراین به‌منظور روشن ساختن سطح حفاظت تکاملی شبکه تنظیم کننده‌ای که بازسازی چشم را کنترل می‌کند، ضروری است مشخص شود که آیا این میکرو RNA در تنظیم ارتولوگ‌های Pax6 در شبکه چشم ماهی زبرا نقش دارد (Tappeiner *et al.*, 2016). در شکل ۳ انواع مختلف میکرو RNA ها با تنظیم افزایشی و کاهشی در زمان‌های مهم از فرآیند بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا خلاصه شده است. این تنظیم کننده‌های کوچک در بسیاری فرآیندهای مولکولی مانند تکثیر و مهاجرت سلول‌های پیش‌ساز، تعدیل سکون سلولی و تنظیم آبشارهای پیام‌رسانی که فرآیند بازسازی را راه اندازی می‌کنند، دخیل هستند. بنابراین درک تعامل بین میکرو RNA ها و اهداف آن‌ها در شبکه چشم ماهی زبرا ممکن است به طراحی راهبردهایی برای بازیابی بینایی در پستاندارانی که چشم آن‌ها آسیب دیده است، منجر شود.

نتیجه‌گیری

در این بررسی آخرین یافته‌های علمی در مورد نقش میکرو RNA ها در فرآیند بازسازی و همچنین پیشرفت‌های به‌دست آمده با استفاده از ماهی زبرا به عنوان یک مدل تحقیقاتی را مرور کردیم. بر اساس بررسی‌های انجام گرفته در این پژوهش می‌توان گفت قطعاً میکرو RNA ها به عنوان تنظیم کننده‌های مهم فرآیند بازسازی بافت در ماهی زبرا هستند و این یافته‌ها ممکن است راه‌های جدیدی را جهت بازسازی بافت در انسان باز کنند. موارد مهمی که از این بررسی گسترده در دنیای میکرو RNA ها و نقش آن‌ها در بازسازی بافت می‌توانیم عنوان کنیم، عبارتند از: ژن‌های میکرو RNA از یک تا چند صد ژن در طی فازهای مختلف بازسازی بافت ماهی زبرا بالغ دارای بیان افتراقی هستند و به خصوص در مراحل اولیه تکوین، بیان ژن‌ها را تنظیم می‌کنند. فعالیت تنظیمی میکرو RNA ها موقتی است و به

سلول‌های پیش‌ساز نورونی گلیال مولر لازم است میزان بیان mir-203 در طی فرآیند بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا کاهش یابد. آن‌ها پس از اینکه مشخص شد بیان mir-203 در سلول‌های گلیال مولر آسیب دیده در مقایسه با سلول‌های آسیب ندیده به میزان تقریباً ۷۰ درصد کاهش یافته است، از طریق افزایش بیان بیش از حد mir-203 اثبات کردند که این میکرو RNA می‌تواند تکثیر سلول‌های پیش‌ساز را مهار نماید اما تأثیری بر تمایز زدایی سلول‌های گلیال مولر ندارد (Rajaram *et al.*, 2014; Konar *et al.*, 2021). این مطالعه همچنین نشان داد که mir-203 این اعمال را از طریق تعدیل ژن هدفش یعنی pax6b انجام می‌دهد، ژنی که برای تکثیر سلول پیش‌ساز در طی بازسازی گیرنده نوری مورد نیاز است (Lahne *et al.*, 2021). علاوه بر این Sharma و همکاران (۲۰۱۹)، گزارش کردند که mir-200a، mir-143 و mir-145 در ماهی زبرا بلافاصله پس از آسیب شبکه چشم تنظیم افزایشی شدند (Sharma *et al.*, 2019). این گروه تحقیقاتی همچنین نشان دادند که مسیر پیام‌رسانی Tgf بتا که تمایل به ایجاد تکثیر سلولی دارد، برای بیان این میکرو RNA ها در طی فرآیند بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا ضروری است (Sharma *et al.*, 2020). فاکتور رونویسی القاء کننده خاصیت پرتوانی یعنی oct4 از طریق تعدیل آبشار Tgf بتا، اثر سرکوب‌کنندگی بر بیان این میکرو RNA ها دارد در حالی که mir-200a و mir-200b باعث کاهش تکثیر سلول‌های پیش‌ساز گلیال مولر می‌شوند و mir-143 و mir-145 تمایل به افزایش تکثیر این سلول‌ها دارند. این یافته نشان می‌دهد که میکرو RNA های اخیر قبلاً در فرآیند برنامه‌ریزی مجدد و تمایز سلولی سیستم‌های پستانداران دخیل بوده (Davalos *et al.*, 2012; Long and Miano, 2011) و در تعیین تعداد سلول‌ها در جایگاه آسیب نقش دارند. یکی دیگر از میکرو RNA هایی که در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در فرآیند بازسازی شبکه چشم ماهی زبرا نقش دارد، mir-7a می‌باشد

- Expression during Zebrafish Caudal Fin Regeneration.
- Agrawal V., Johnson S.A., Reing J., Zhang L., Tottey S., Wang G., Badylak S F. 2010. Epimorphic regeneration approach to tissue replacement in adult mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(8), 3351-3355.
- Alibardi L. 2010. *Regeneration in Reptiles and its Position Among Vertebrates*. In *Morphological and Cellular Aspects of Tail and Limb Regeneration in Lizards* (pp. 1-49). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Badr A.A. 2014. An overview of the structure and function of small RNA molecules and their role in spermatogenesis of mammals. 2th Basic Veterinary Sciences Congress. Shiraz University. Shiraz. 12-13 November 2014. (In Persian)
- Badr A.A. 2015. MicroRNAs: An emerging field in anticancer drug resistance. 14th Iranian pharmaceutical sciences congress. Tehran University of Medical Sciences. Tehran 21-24 December 2015.
- Badr A.A. 2021. Application of circulating microRNAs to diseases diagnosis in veterinary medicine. 1st National Conference on Modern Veterinary Technologies. Amol University of Special Modern Technologies. Amol. 8 September 2021. (In Persian)
- Badr A.A. 2021. Potential Role of MicroRNAs in Cancer Immunotherapy. 15th Virtual International Congress of Immunology and Allergy. Ahvaz Jondishapur University of Medical Sciences. Ahvaz. 27-29 Janury 2021.
- Badr AA. 2021. MicroRNAs: Novel biomarkers for male infertility treatment. 12th National and 4th International Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran. University of Tehran. 22-24 August 2021.
- Barbosa-Sabanero K., Hoffmann A., Judge C., Lightcap N., Tsonis P.A., Del Rio-Tsonis K. 2012. Lens and retina regeneration: new perspectives from model organisms. *Biochemical Journal* 447(3), 321-334.
- Bely A.E., Nyberg K.G. 2010. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in Ecology & Evolution* 25(3), 161-170.
- Bise T., Sallin P., Pfefferli C., Jaźwińska A. 2020. Multiple cryoinjuries modulate the efficiency of zebrafish heart regeneration.
- مرحله‌ای از بازسازی که بافت مورد نظر در آن قرار دارد بستگی دارد. میکرو RNA های مختلف در زمان‌های متفاوتی پس از آسیب بافتی عمل می‌کنند و با توجه به نیازهای کنترل شده توسط سلول‌هایی که در ناحیه ضایعه فعال هستند، میزان بیان آن‌ها تغییر می‌کند. این کنترل خوب اجازه می‌دهد به تنظیم دقیق در سطح بیان ژن‌ها و محصولات پروتئینی آن‌ها در هر مرحله از بازسازی که مورد نیاز است.
- در گروه‌های اصلی مهره‌داران، در طول فرآیند بازسازی دست‌ها، پاها، اندام‌ها و ساختارها برنامه تنظیمی وساطت شده توسط میکرو RNA ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای در سطح درون بافتی بیشتر از سطح بین بافتی در یک فرد از هر گونه خاص حفظ می‌شود. آنالیز مقایسه‌ای وسیع از رونوشت میکرو RNA به‌ویژه توسط مجموعه داده‌های جامع تولید شده بوسیله توالی RNA حاوی اطلاعات مفیدی است درباره مولکول‌هایی که در فرآیند بازسازی پس از آسیب در بین بافت‌های ماهی زبرا نقش محوری دارند و این نشان‌دهنده راهبردی ارزشمند برای اهداف در مطالعات انسانی است. یک مثال برجسته *mir-21* است، یک میکرو RNA یی که به صورت افتراقی در بازسازی چندین بافت ماهی زبرا بیان شده و رونوشت‌های بالغ آن به‌طور تکاملی در سلول‌های انسانی حفظ می‌شود که این موضوع چشم‌اندازی را برای تحقیقات آینده فراهم نموده است.
- با توجه به تطبیق‌پذیری و چند منظوره بودن ماهی زبرا و استفاده از آن به عنوان یک مدل جانوری برای تحقیقات ساختاری و عملکردی ژنوم و کنترل در استفاده از تکنیک‌های جدید مانند ویرایش ژنوم بوسیله CRISPR اطمینان داریم که پژوهش در مورد نقش میکرو RNA ها در فرآیند بازسازی به سرعت افزایش خواهد یافت.

منابع

Adams J. 2016. Diversity of Small RNA

- Hui S.P., Sengupta D., Lee S.G.P., Sen T., Kundu S., Mathavan S., Ghosh S. 2014. Genome wide expression profiling during spinal cord regeneration identifies comprehensive cellular responses in zebrafish. *PLoS One* 9(1), e84212.
- Ishikawa Y., Hosogane M., Okuyama R., Aoyama S., Onoyama I., Nakayama K.I., Nakayama K. 2013. Opposing functions of Fbxw7 in keratinocyte growth, differentiation and skin tumorigenesis mediated through negative regulation of c-Myc and Notch. *Oncogene* 32(15), 1921-1932.
- Jopling C., Boue S., Belmonte J.C.I. 2011. Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration. *Nature reviews Molecular Cell Biology* 12(2), 79-89.
- Jopling C., Sleep E., Raya M., Martí M., Raya A., Belmonte J.C.I. 2010. Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. *Nature* 464(7288), 606-609.
- Kamei C.N., Drummond I.A. (2014). Zebrafish as a model for studying kidney regeneration. *Current Pathobiology Reports* 2(2), 53-59.
- Kikuch K. 2014. Advances in understanding the mechanism of zebrafish heart regeneration. *Stem Cell Research* 13(3), 542-555.
- Kikuchi K., Holdway J.E., Werdich A.A., Anderson R.M., Fang Y., Egnaczyk G.F., Poss, K.D. 2010. Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4+ cardiomyocytes. *Nature* 464(7288), 601-605.
- Konar G.J., Ferguson C., Flickinger Z., Kent M.R., Patton J.G. 2021. miRNAs and Müller glia reprogramming during retina regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 1851.
- Lahne M., Brecker M., Jones S.E., Hyde D.R. 2021. The Regenerating adult zebrafish retina recapitulates developmental fate specification programs. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 1927.
- Laplace-Builhé B., Bahraoui S., Jorgensen C., Djouad F. 2021. From the basis of epimorphic regeneration to enhanced regenerative therapies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 1774.
- Lee H.J., Hou Y., Chen Y., Dailey Z.Z., Riddihough A., Jang H.S., Johnson S.L. *Scientific Reports* 10(1), 1-15.
- Bringmann A., Iandiev I., Pannicke T., Wurm A., Hollborn M., Wiedemann P., Reichenbach A. 2009. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. *Progress in Retinal and Eye Research* 28(6), 423-451.
- Cao Z., Meng Y., Gong F., Xu Z., Liu F., Fang M., Lu H. 2021. Calcineurin controls proximodistal blastema polarity in zebrafish fin regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(2).
- Cao, Z., Yang, Q., & Luo, L. (2021). Zebrafish as a Model for Germ Cell Regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
- Ceci M., Carlantoni C., Missinato M.A., Bonvissuto D., Di Giacomo B., Contu R., Romano N. 2018. Micro RNAs are involved in activation of epicardium during zebrafish heart regeneration. *Cell Death Discovery* 4(1), 1-13.
- Chendrimada T.P., Finn K.J., Ji X., Baillat D., Gregory R.I., Liebhaber S.A., Shiekhattar R. (2007). MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature* 447(7146), 823-828.
- Davalos V., Moutinho C., Villanueva A., Boque R., Silva P., Carneiro F., Esteller M. 2012. Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis. *Oncogene* 31(16), 2062-2074.
- David P.B. 2018. Metazoan MicroRNAs. *Cell* 173, 20-51.
- Demirci Y., Cucun G., Poyraz Y.K., Mohammed S., Heger G., Papatheodorou I., Ozhan G. 2020. Comparative transcriptome analysis of the regenerating zebrafish telencephalon unravels a resource with key pathways during two early stages and activation of wnt/ β -catenin signaling at the early wound healing stage. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8, 1054.
- Goldman D. 2014. Müller glial cell reprogramming and retina regeneration. *Nature Reviews Neuroscience* 15(7), 431-442.
- González-Rosa J.M., Martín V., Peralta M., Torres M., Mercader N. 2011. Extensive scar formation and regression during heart regeneration after cryoinjury in zebrafish. *Development* 138(9), 1663-1674.

- miRNA expression suppresses proliferation of Müller Glia-derived neuronal progenitor cells. *Developmental Dynamics* 243(12), 1591-1605.
- Rajaram K., Harding R.L., Hyde D.R., Patton J.G. 2014. miR-203 regulates progenitor cell proliferation during adult zebrafish retina regeneration. *Developmental Biology* 392(2), 393-403.
- Ribeiro A.O., de Oliveira A.C., Costa J.M., Nachtigall P.G., Herkenhoff M.E., Campos V.F., Pinhal D. 2021. MicroRNA roles in regeneration: Multiple lessons from zebrafish. *Developmental Dynamics*.
- Safian D., Wiegertjes G.F., Pollux B.J. 2021. The fish family Poeciliidae as a model to study the evolution and diversification of regenerative capacity in vertebrates. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9, 613157
- Schebesta M., Lien C.L., Engel F.B., Keating M.T. 2006. Transcriptional profiling of caudal fin regeneration in zebrafish. *The Scientific World Journal* 6, 38-54.
- Schier, A. F., & Giraldez, A. J. (2006, January). MicroRNA function and mechanism: insights from zebra fish. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology (71: 195-203). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Seifert A.W., Muneoka K. 2018. The blastema and epimorphic regeneration in mammals. *Developmental Biology* 433(2), 190-199.
- Sharma P., Gupta S., Chaudhary M., Mitra S., Chawla B., Khursheed M.A., Ramachandran R. 2020. Biphasic role of Tgf- β signaling during müller Glia reprogramming and retinal regeneration in zebrafish. *Iscience* 23(2), 100817.
- Sharma P., Gupta S., Chaudhary M., Mitra S., Chawla B., Khursheed M.A., Ramachandran R. 2019. Oct4 mediates Müller glia reprogramming and cell cycle exit during retina regeneration in zebrafish. *Life science alliance* 2(5).
- Shibata E., Yokota Y., Horita N., Kudo A., Abe G., Kawakami K., Kawakami A. 2016. Fgf signalling controls diverse aspects of fin regeneration. *Development* 143(16), 2920-2929.
- Stewart S., Tsun Z.Y., Belmonte J.C.I. 2009. A histone demethylase is necessary for regeneration in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(47), 19889-19894.
2020. Regenerating zebrafish fin epigenome is characterized by stable lineage-specific DNA methylation and dynamic chromatin accessibility. *Genome Biology* 21(1), 1-17.
- Leigh N.D., Dunlap G.S., Johnson K., Mariano R., Oshiro R., Wong A.Y. & Whited J L. (2018). Transcriptomic landscape of the blastema niche in regenerating adult axolotl limbs at single-cell resolution. *Nature communications*, 9(1), 1-14.
- Londono R., Sun A.X., Tuan R S., Lozito T.P. 2018. Tissue repair and epimorphic regeneration: An overview. *Current pathobiology Reports* 6(1), 61-69.
- Long X., Miano J.M. 2011. Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) utilizes distinct pathways for the transcriptional activation of microRNA 143/145 in human coronary artery smooth muscle cells. *Journal of Biological Chemistry* 286(34), 30119-30129.
- Lucini C., D'Angelo L., Cacialli P., Palladino A., De Girolamo P. 2018. BDNF, brain, and regeneration: insights from zebrafish. *International journal of Molecular Sciences* 19(10), 3155.
- Marques I.J., Lupi E., Mercader N. 2019. Model systems for regeneration: zebrafish. *Development* 146(18), dev167692
- Mehta A.S., Singh A. 2019. Insights into regeneration tool box: An animal model approach. *Developmental Biology* 453(2), 111-129.
- Mercer S.E., Cheng C.H., Atkinson D.L., Krcmery J., Guzman C E., Kent D.T. & Simon H.G. 2012. Multi-tissue microarray analysis identifies a molecular signature of regeneration. *PLoS one* 7(12), e52375.
- Mokalled M.H., Patra C., Dickson A.L., Endo T., Stainier D.Y., Poss K.D. 2016. Injury-induced ctgfa directs glial bridging and spinal cord regeneration in zebrafish. *Science* 354(6312), 630-634.
- Nogueira A.F., Costa C.M., Lorena J., Moreira R.N., Frota-Lima G.N., Furtado C., Schneider I. 2016. Tetrapod limb and sarcopterygian fin regeneration share a core genetic programme. *Nature Communications* 7(1), 1-9.
- Rajaram K., Harding R.L., Bailey T., Patton J.G., Hyde D.R. 2014. Dynamic miRNA expression patterns during retinal regeneration in zebrafish: reduced dicer or

- Tappeiner C., Maurer E., Sallin P., Bise T., Enzmann V., Tschopp M. 2016. Inhibition of the TGF β pathway enhances retinal regeneration in adult zebrafish. *PLoS One* 11(11), e0167073.
- Thatcher E.J., Paydar I., Anderson K.K., Patton J.G. 2008. Regulation of zebrafish fin regeneration by microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(47), 18384-18389.
- Thomas E.D., Raible, D.W. 2019. Distinct progenitor populations mediate regeneration in the zebrafish lateral line. *Elife* 8, e43736.
- Tsonis P.A., Fox T.P. 2009. Regeneration according to Spallanzani. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists* 238(9), 2357-2363.
- Uemoto T., Abe G., Tamura K. 2020. Regrowth of zebrafish caudal fin regeneration is determined by the amputated length. *Scientific Reports* 10(1), 1-11.
- Vasudevan, S., Tong, Y., & Steitz, J.A. 2007. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science* 318(5858), 1931-1934.
- Vivien C.J., Hudson J.E., Porrello E.R. 2016. Evolution, comparative biology and ontogeny of vertebrate heart regeneration. *NPJ Regenerative Medicine* 1(1), 1-14.
- Wan J., Goldman D. 2016. Retina regeneration in zebrafish. *Current Opinion in Genetics & Development* 40, 41-47.
- Wang B., Xu M., Li M., Wu F., Hu S., Chen, X., Wang Y. 2020. Mir-25 promotes cardiomyocyte proliferation by targeting fbw7. *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 19, 1299-1308.
- Whitehead G.G., Makino S., Lien, C.L., Keating M.T. 2005. fgf20 is essential for initiating zebrafish fin regeneration. *Science*, 310(5756), 1957-1960.
- Yin V.P., Lepilina A., Smith A., Poss K.D. 2012. Regulation of zebrafish heart regeneration by miR-133. *Developmental Biology* 365(2), 319-327.
- Zhu X., Xiao C., Xiong J.W. 2018. Epigenetic regulation of organ regeneration in zebrafish. *Journal of Cardiovascular Development and Disease* 5(4), 57.

Review Article**Investigation of the role of microRNAs in the regeneration of damaged organs in zebrafish****Ahmad AliBadr**

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.

*Corresponding author: badr713@gmail.com

Received: 2022/4/12

Accepted: 2022/5/11

Abstract

The tissue regeneration due to its attractive nature and potential applications in human diseases has always been in the focus of research. Determining the cellular and molecular mechanisms involved in the regeneration process in model organisms that perform well regeneration can help us to developing strategies for tissue repair and regeneration in species such as humans that have low regenerative capacity. MicroRNAs, are small, non-coding RNAs that play a key role in controlling the expression of genes that conduct tissue regeneration by inducing overexpression or inhibition. Various experiments have been performed to identify the types of microRNAs that conduct regenerative responses. Due to the exceptional ability of the zebrafish (*Danio rerio*) in the process of self-healing of damaged tissues, this model has been considered as the focus of regeneration researches. In this article, we intend to review the latest findings on the effect of microRNAs on the fin, heart and eye regeneration process of zebrafish by regulating gene expression. The future prospects and further development potential of this fascinating research field will also be discussed.

Keywords: MicroRNA, Regeneration, Gene expression, Zebrafish.