



Bir Gen İfade Düzenleyicisi miRNA

A Gene Expression Regulator: miRNA

Figen Güzelgül¹, Kıymet Aksoy¹

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNA) binding to target mRNAs and having function in regulating gene expression are of 18-25 nucleotides in length and take place in the class of non-coding RNAs. Although approximately 1900 human miRNA types have been identified so far, quite little is known about their biological functions. In some studies, it is shown that miRNA expression levels are important for many biological functions such as cell proliferation, differentiation, apoptosis and metabolism. Recent studies have pointed out that miRNAs have been used as diagnosis and prognosis biomarker in many human diseases including cancer, viral diseases, cardiovascular disorders and metabolic disturbance. Such as a miRNA type's regulating more than one mRNA expression levels, a mRNA level has been regulated by numbers of miRNA types. Since changing the expression level of a miRNA type effects the whole metabolism, it is required to have cell-specific miRNAs. In the event of cell type-specific miRNAs are having found, it is expected that the general metabolism is better understood and, moreover, miRNAs are used more effectively in diagnosis and treatment of diseases.

Key words: Noncoding RNA, miRNA, Mrna

ÖZET

Hedef mRNA'lara bağlanarak gen ifadesinin düzenlenmesinde işlev gören mikroRNA'lar (miRNA) 18-25 nükleotit uzunluğunda olup kısa kodlanmayan RNA sınıfında yer almaktadırlar. İnsanlarda yaklaşık 1900 miRNA tipi tanımlanmış olmasına rağmen şimdiye kadar biyolojik işlevleri hakkında bilinenler oldukça azdır. Bazı çalışmalarda hücrelerin proliferasyon, farklılaşma, apoptozis ve metabolizma gibi biyolojik işlevlerdemiRNA'ların ekspresyon seviyelerinin önemli olduğu gösterilmiştir. Son zamanlardaki çalışmalarda miRNA'ların kanser, viral hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik bozuklukları da içine alan birçok hastalıkta tanı ve prognozda kullanılabileceği belirtilmiştir.

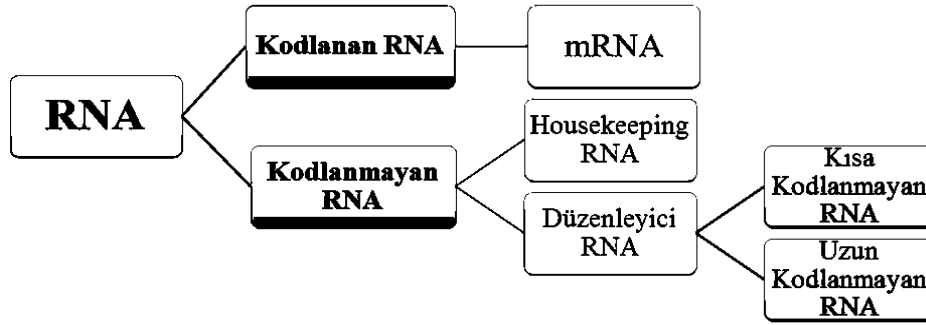


Bir miRNA tipinin birden fazla mRNA'nın ekspresyon seviyesini düzenlediği gibi, bir mRNA ekspresyonu birden fazla miRNA tipi tarafından düzenlenebilmektedir. Bir miRNA tipinin ekspresyon düzeyini değiştirmek tüm metabolizmayı etkileyebileceği için hücre tipine özgü miRNA'ların bulunması gerekmektedir. Hücre tiplerine özgü miRNA'ların bulunması halinde genel metabolizmanın daha iyi anlaşılması ve hatta hastalıkların tanı ve tedavisinde miRNA'ların etkin olarak kullanılması beklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Kodlanmayan RNA, miRNA, mRNA.

Giriş

Ökaryotik DNA'ların %90'nı RNA'ya transkribe olmaktadır. Transkribe olan RNA'nın ise sadece%1-2 kadarı proteine çevrilmektedir. Proteine çevrilemeyen RNA'lara kodlanmamış RNA (ncRNA) adı verilmektedir. Evrimsel açıdan korunmuş dizelere sahip ncRNA'lar birçok biyolojik süreçlerde önemli işlevleri bulunmaktadır¹. Çok sayıda tipi bulunan ncRNA'lar, yaşam için gerekli (housekeeping) ncRNA'lar ve düzenleyici ncRNA olarak iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Housekeeping RNA'lar canlıların bütün dokularında bulunarak çok sayıda işlevleri yerine getirirken, gen ifadesinin düzenlenmesinde işlevleri olan düzenleyici ncRNA'lar ise nükleotit (nt) sayılarına göre uzun ncRNA (>200nt) ve kısa ncRNA (<200nt) olarak iki alt sınıfa ayrılmaktadır (Şekil1)²⁻⁴.



Şekil 1. RNA'ların Sınıflandırılması²⁻⁴

X kromozomunun inaktivasyonundan sorumlu Xist ve Tsix RNA, embriyonik pluripotent hücrelerinin üreme hücrelerine farklılaşmasında ve transkripsiyonunda işlev gören LincRNA ve mRNA'nın post transkripsiyonel düzenleyicisi olan circRNA'lar uzun ncRNA sınıfına, mRNA'nın transkripsiyonel düzenleyicisi olarak işlev yapan siRNA ve miRNA ve eşey hücrelerinde

Transpozon ve retroelementlerin baskılanmasından sorumlu olan piwiRNA'lar ise kısa ncRNA sınıfına girmektedirler^{2,3}.

miRNA'lar

İlk kez 1993 yılında Victor Ambros'un laboratuvarında Lee ve arkadaşları tarafından *Caenorhabditis elegans*'ta (*C. Elegans*) lin-4 adı verilen miRNA keşfedilmiştir. Aynı tarihte Gary Ruvkun'nun laboratuvarında Wightman ve arkadaşları tarafından *C. Elegans* üzerinde yapılan çalışmada lin-4 adı verilen miRNA'ların lin-14 geninin negatif düzenleyicisi olarak işlev yaptığı gösterilmiştir^{5,6}. Reinhart ve arkadaşları tarafından 2000 yılında *C. Elegans*'ta let-7 adı verilen miRNA tipi keşfedilmiştir. 21nt'ten oluşan let-7 larva döneminden erişkin döneme geçişi kontrol etmektedir. Let-7'nin aktivasyonun kaybı durumunda erişkin dönemden larva dönemine geçişin olduğu gözlenmiştir^{7,8}. Let7'nin keşfi devrim niteliğinde olup bu kısa kodlanmayan RNA sınıfında yer alan ve gen ifadesinin düzenlenmesinden sorumlu RNA'lara mikro RNA (miRNA) adı verilmiştir⁸.

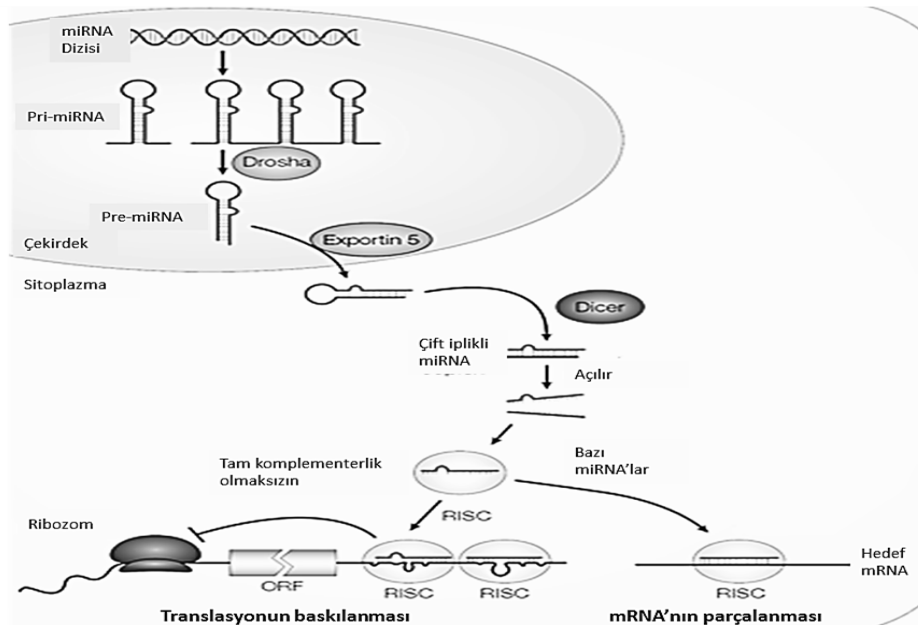
Günümüzde birçok canlıda gözlenen bu RNA'ların sadece insanda 1881 miRNA tipinin bulunduğu gösterilmiştir⁹. miRNA'ların işlevsel yapısının yanı sıra evrimsel açıdan korunmuş olduğu gözlenmiştir².

miRNA'ların Biyogenezi

miRNA'lar 18-25nt uzunluğunda gen ifadesinin post transkripsiyonel düzenleyicisi olarak işlev yapan kısa kodlanmayan RNA'lardır¹⁰. Memeli transkriptinin ~%60'ından fazlası miRNA'ların kontrolü altındadır¹¹. Bu miRNA'ların ~%30-50'si protein kodlayan genlerin intronlarından kodlanırken geriye kalanlar ise intergenik bölgelerde yer almaktadırlar¹². miRNA'lar işlevlerini çoğunlukla mRNA'nın 3' UTR (untranslated region) bağlanarak, daha azınlıkta 5' UTR, ORF (open reading frame) ya da promotör bölgelerine bağlanarak yapmaktadırlar^{13,14}. miRNA'ların "çekirdek dizisi" olarak ifade edilen 2-8nt uzunluğundaki ana dizileri hedef mRNA'ya tam komplementerlik göstererek bağlandıkları için büyük önem taşımaktadır¹³.

DNA'dan ilk olarak çoğunlukla RNA polimeraz II veya azınlıkta RNA polimeraz III enzimleri tarafından >1000nt uzunluğunda olgun miRNA'nın öncül transkripti olan pri-miRNA sentezlenir^{12,15,16}. Karakteristik mRNA gibi pri-miRNA'ların 5' ucunda 7 metilguanozin başlığı ve 3' ucunda poli A kuyruğu bulunmaktadır^{12,13}. Tek zincirden oluşan pri-miRNA'lar kendi üzerinde kıvrılarak saç tokası (hairpin) yapısını oluştururlar. Çekirdek RNAaz III endonükleaz

ailesinden olan Drosha enzimi, DGCR8 (insanda) alt ünitesi ile birleşerek pri-miRNA'yı keser. Enzim tarafından kesilen miRNA'lar 70-100nt uzunluğunda olup pre-miRNA'ya dönüşürler. Pre-miRNA nükleer transport reseptör (Exportin 5) ile çekirdekte sitoplazmaya geçerek sitoplazmada RNAaz III ailesinden Dicer enzimi, TRBP(insanda) alt ünitesi ile birleşir ve pri-miRNA'nın saç tokası yapısını keser. Dicer enzimi tarafından kesilen RNA'lar 3' uçlarında 2nt'lik çıkıntı (overhang) kalacak biçimde 18-25nt uzunluğunda kısa çift iplikli olgun miRNA'lara dönüşürler^{3,10,11}. Çift iplikli miRNA'ların bir ipliği Argonuate-2 (Ago-2) bağlı RISC (RNA-induced silencing complex) enzim kompleksine bağlanarak hedef mRNA'nın 3'UTR, 5'UTR, ORF bölgelerine ya da promotör bölgelerine bağlanarak translasyonu ya da mRNA'yı baskılayarak ya da mRNA'yı parçalayarak engeller^{13,14,17}(Şekil 2).



Şekil 2. Tipik miRNA Yolağı¹⁷.

miRNA'ların tipik yollarının dışında atipik yolları da tanımlanmış ve bu yolların ortaya çıkış nedeni henüz belirlenememiştir. Bu yollar Drosha- bağımsız yollar ve Dicer bağımsız yollar olmak üzere ikiye ayrılırlar. En çok bilinen yolak mirtron yolağı olmasına rağmen bilim insanları yakın zamanda bu yolağa benzeyen birçok atipik yolların da varlığını göstermişlerdir¹⁴(Şekil 3).

miRNA yolağının alternatifi olan mirtron yolağı; ilk kez *Drosophila melanogaster* ve *C. Elegans*'ta gözlenmiş olup memeliler dahil olmak üzere birçok canlıda varlığı gösterilmiştir^{14,18} (Tablo 1). Tipik pri-miRNA'lara göre mirtron yolağının öncülleri daha kısadır¹⁹. Evrimsel açıdan korunmuş olan splicing bağlı bu miRNA'lar mRNA kodlayan genlerin intronlarında lokalize olmuştur¹⁴. İtronlar Drosha enziminin kesimine uğramadan splicing mekanizması ile kısa saç tokası yapısı oluşturur. Oluşan bu yapının uçları DBR1 (insanda) enzimi ile kesilerek Exportin5 ile sitoplazmaya taşınır ve Dicer enzimi ile kesilerek olgun miRNA'lar oluşturulur²⁰ (Şekil 3).

Tablo 1. Farklı Türlerde Tanımlanmış Mirtron Tipleri¹⁴.

Organizma Türü	Tür	Mirtron'lar	Kuyruklu Mirtron'lar
Omurgasızlar	<i>C. elegans</i>	miR-62	
	<i>Drosophila</i>	miR-1003, 1004, 1010	miR-10-17
Bitki	Pirinç	miR-1429.2	
Memelilerde	Fare	miR-877, 1224, 708, 1981	miR-1982
	Sıçan	miR-877	
	İnek	miR-877	
	Makak	miR-877, 1224, 1226, 1227, 1230, 1232, 1235, 1239, 1240, 1241	
	Şempanze	miR-877, 1224, 1225, 1226	
	İnsan	miR-877, 1224, 1225, 1226, 1227, 1228, 1229, 1231, 1233, 1234, 1236, 1237, 1238	

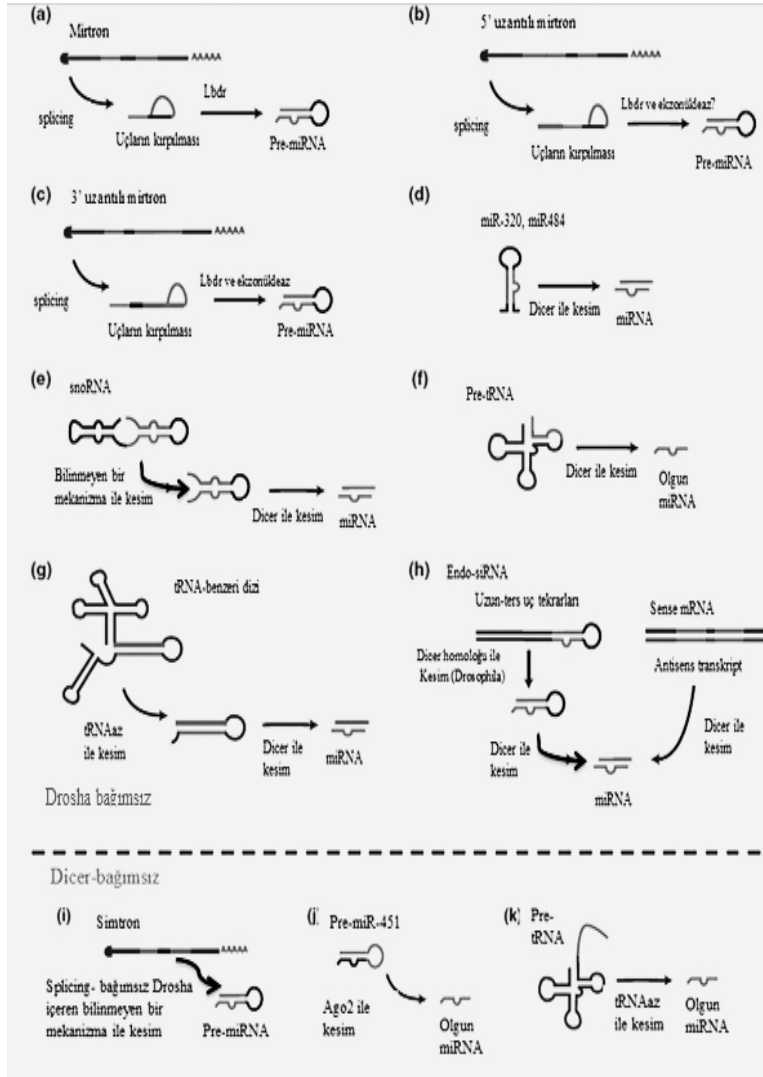
Mirtron yolağına ek olarak 3' veya 5' bölgelerinde uzantıları olan mirtron yolakları bulunmaktadır. miR-1017 *Drosophila melanogaster* 'da en iyi bilinen 3' uzantılı (~100nt) mirtron tipi olup henüz omurgalılarda gösterilmemiştir. 3' uzantılı mirtronların biyogenezinde ilk basamak intronların splicing yaparak saç tokası yapısını oluşturmasıdır. Saç tokası yapısı Ldbr (insanda DBR1) enziminin kesimine uğrar ve 3' ucunda 100nt'lik bir uzantı bulunduran 3'

uzantılı mirtronları oluştururlar. Bu 3' uzantılı mirtronların 3'→5' ekzonükleazlar ile 3' ucundaki uzantılar uzaklaştırılır. Exportin5 ile sitoplazmaya taşınan bu mirtronlar, Dicer enziminin kesimiyle olgun miRNA'ları oluştururlar¹⁹ (Şekil 3). 3' uzantılı mirtronların aksine çok sayıda 5' uzantılı mirtron tipi kuşlarda ve memelilerde gözlenmiştir¹⁹. miR-1982 memelilerde bulunmuştur ve Drosha enzimi tarafından kesime uğramayan bu mirtron tipinin 5' ucunda 11 nt'lik overhang çıkıntısı bulunmaktadır. Exportin 5 ile sitoplazmaya taşınmadan önce henüz tanımlanamayan bir ekzonükleaz ile bu mirtron tipinin 5' ucundaki uzantının kesildiği bildirilmiştir¹⁴ (Şekil 3). Drosha bağımsız yolakların arasında; miR-320 ve miR-484 tiplerinin yanı sıra kısa nükleolar RNA (snoRNA)'lar bulunmaktadır. Atipik miRNA yolaklarını seçen bu RNA'lar splicing yapmaksızın henüz belirlenemeyen bir mekanizma ile kısa pre-miRNA benzeri saç tokası yapısı oluştururlar ve doğrudan Dicer enzimi ile kesime uğramaktadırlar. Ayrıca taşıyıcı RNA (tRNA) benzeri yapılar, pre-tRNA ve endo-siRNA yapıları da Drosha enzimine gerek duymadan olgun miRNA'yı oluşturmaktadırlar¹⁴ (Şekil 3).

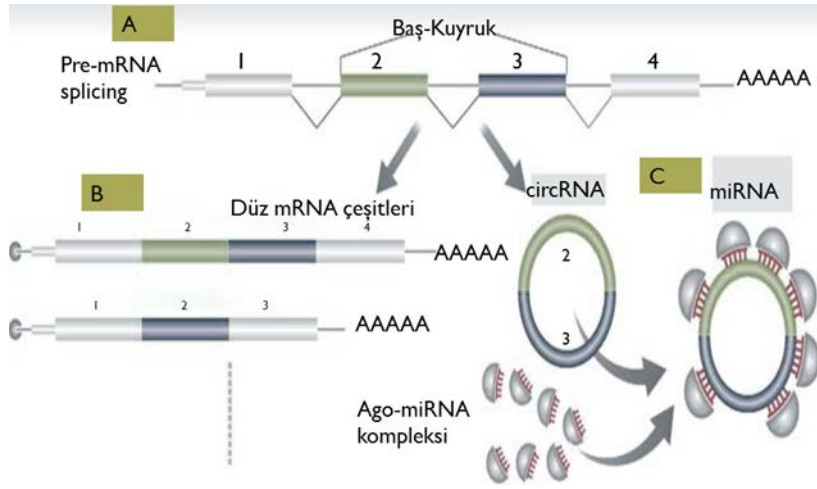
Dicer- bağımsız atipik miRNA yolaklarının arasından en çok bilinen simtron yolağıdır. Simtron yolağında; miRNA öncülleri DGCR8'i ya da splicing mekanizmasını kullanmayarak Drosha tarafından kesilip pre-miRNA'yı oluştururlar^{14,20-22}. Exportin 5, Dicer ve Ago 2'ye ihtiyaç duyulmaksızın henüz bilinmeyen bir mekanizma sayesinde pre-miRNA'lerden olgun miRNA'lar oluşturulmaktadır²⁰⁻²². Dicer- bağımsız miRNA yolaklarını pre-miR-451 ve pre-tRNA da kullanmaktadır¹⁴ (Şekil 3).

İnsan miRNA'larının ~%1-2 kadarını oluşturduğu bilinen atipik miRNA yolaklarının henüz işlevleri tam olarak aydınlatılmamıştır. Atipik miRNA yolakları tipik miRNA'lara göre mRNA dizisine daha özgün olduklarından sentetik olarak üretilip tedavide kullanımları gündemdedir¹⁴.

Son zamanlarda bilim insanları tarafından 1-5 ekzondan oluşabilen uzun kodlanmayan RNA sınıfına ait circRNA'ların miRNA'nın bazı tiplerinin işlevlerini bloke ettiği belirtilmiştir. Hansen ve arkadaşları ile Memczak ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda circRNA tipi olan CIRS-7(CDR1az), miR-7'nin "sponge"u olarak görev aldığı ve böylece miRNA'ların hedef mRNA yerine circRNA'ya bağlanarak miRNA'ların translasyonu inhibe etmesini engellediği gösterilmiştir (Şekil 4). Hansen ve arkadaşları insanların ve farelerin beyinlerinde eksprese olan yaklaşık 1500nt'ten oluşan CIRS-7'nin miR-7'yi bağlayabilecek 70 bağlama bölgesi olduğu belirtilmiştir^{23,24}.



Şekil 3. Atipik miRNA Yolakları a) Mirtron yolağı b) 5' uzantılı mirtron yolağı c) 3' uzantılı mirtron yolağı d) miR-320, miR-484 yolağı e) snoRNA yolağı f) Pre-tRNA yolağı (Drosba bağımsız) g) tRNA-benzeri dizinin yolağı h) Endo si-RNA yolağı i) Simtron yolağı j) Pre-miR-451 yolağı k) Pre-tRNA yolağı (Dicer- bağımsız)¹⁴.



Şekil 4. CircRNA'nın Biyogenezini. A. Pre-mRNA'dan circRNA'nın biyogenezini. B. Pre-mRNA'dan olgun mRNA oluşumu. C. Olgun circRNA'nın olgun miRNA'yı (Ago-miRNA kompleksi) kendine bağlaması²³.

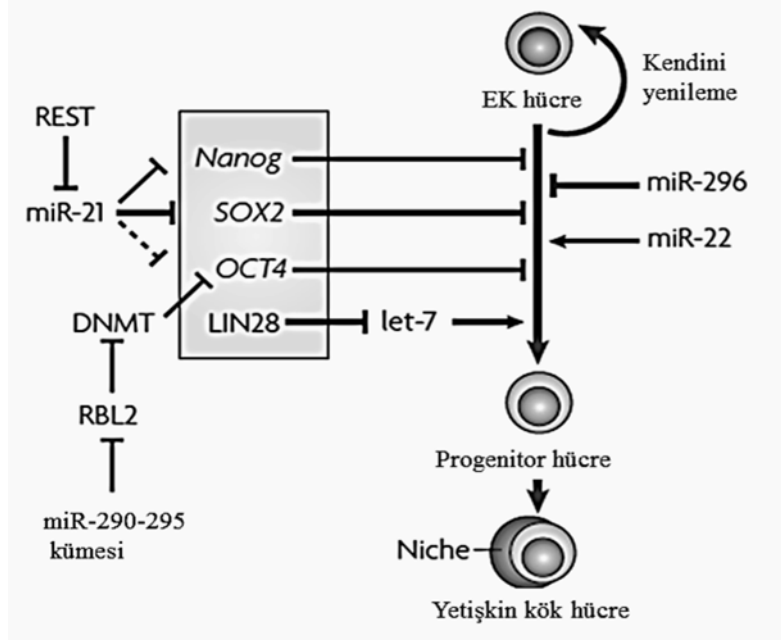
miRNA'ların Biyolojik İşlevleri

Gittikçe artan sayıda ve birçok bilim insanı tarafından yapılan çalışmalarda miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin farklı biyolojik süreçte işlevi olduğu belirlenmiştir. Günümüze kadar 1881 tip miRNA tanımlanmış olup kök hücreden apoptozise kadar olan biyolojik süreçlerde, hastalıkların tanı ve tedavisi gibi birçok alanda miRNA'ların işlevi araştırılmaktadır.

miRNA'ların Kök Hücrelerdeki İşlevleri

Birçok bilim insanları çalışmalarında miRNA'ların kök hücrenin kaderi ve davranışları üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bir transkripsiyon baskılayıcısı olan RE-1 sessizleştirici transkripsiyon faktörü (REST) miR-21'in geni üzerine etki etmektedir. miR-21 Nanog, SOX ve OCT4 (ayrıca OCT3 ve POU5F1)'ün gen ifadelerini baskılayarak kök hücrelerin farklılaşma yönünde ilerlemesini engellemektedir ve böylece kök hücrenin kendini yenilemesini sağlamaktadır. Benzer olarak kök hücrelerin kendilerini yenilemesi için miR-290-295 kümesi retinoblastoma benzer-2 (RBL2) geni üzerine etki ederler. RBL2 ise DNA metil transferaz (DNMT)'in üzerine etki ederek OCT4'ün ifadesinin baskılanmasına neden olur. Kök hücrelerin

kendisini yenilemeye yönlendiren diğer bir durum ise LIN28'in Drosha ve Dicer enzimlerini inaktif hale getirerek embriyonik kök hücrelerdeki pri-Let-7 miRNA'sının olgunlaşma sürecini özel olarak bloke etmesi ile gerçekleşir. Bunların yanı sıra miR-296 embriyonik kök hücrelerin farklılaşmasını sağlarken miR-22 bu farklılaşmayı inhibe eder²⁵ (Şekil 5).



Şekil 5. miRNA'ların Embriyonik Kök Hücrelerdeki İşlevi²⁵.

miRNA'ların Gelişimdeki İşlevleri

Günümüzde yapılan çalışmalarla kısa kodlanmayan RNA'lardan miRNA, siRNA, rasiRNA ve piwiRNA'ların hayvanların gelişim sürecini kontrol eden ana düzenleyiciler olduğu gösterilmiştir. Kısa kodlanmayan RNA'ların arasında filogenetik açıdan en korunmuş olan miRNA'ların embriyonik gelişim dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte düzenleyici olarak görev aldığı bildirilmiştir²⁶. Le ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miR-125b'nin hematopoetik kök hücre proliferasyonunu etkilediği ve muhtemelen lineage spesifik anti-apoptotik faktör gibi davranarak lenfoid hücre gelişiminde dengeyi kurmada görev aldığı

bildirilmiştir^{27,28}. Nöronal gelişim konusunda yapılan iki farklı çalışmada miR-183 ailesi ve miR-96'nın iç kulağın sensörinöral gelişiminde görev aldığı bildirilmiştir. Özellikle miR-96'nın çekirdek dizisinde meydana gelen mutasyonlar sonucunda insanlarda işitme kaybının geliştiği gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada miR-96'nın çekirdek dizisindeki mutasyonun farelerde işitsel nöronal uzantılar arasının bloke olmasına neden olmasıyla işitme kaybının oluştuğu ayrıca saç hücrelerinin gelişiminin durduğu bildirilmiştir²⁸. Williams ve arkadaşları tarafından fetal ve yetişkin akciğerlerde 21 miRNA tipinin ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında fetal akciğerde 8 miRNA tipinin (miR-26b, miR-29a, miR-29b, miR-29c, miR-142-3p, miR-142-5p, miR-187, miR-223), yetişkin akciğerde ise 13 miRNA tipinin (miR-128a, miR-134, miR-154, miR-154*, miR-199b, miR-199s, miR-214, miR-296, miR-299, miR-323, miR-337, miR368, miR-370) daha yüksek ekspresyon düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir²⁹.

miRNA'ların Apoptozis Mekanizmasındaki İşlevleri

Apoptozis, hücrenin ölümü ile sonuçlanan aktif bir olaydır. Nekrozisten farklı olarak nitrik asit üretimi, intrasellüler K⁺ konsantrasyonunun azalması, hipoksi, iskemi ve serbest oksijen radikalleri gibi ajanların etkisiyle hücrenin ölümü gen kontrolü altında gerçekleşir³⁰. Apoptotik yollarda miRNA'ların işlevi tam olarak anlaşılmamış fakat apoptozisi kontrol eden 30'dan fazla miRNA tipinin olduğu gösterilmiştir^{30,31}. İlk kez 2003 yılında Brennecke ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Drosophila*'da miR-14 ve bantam miRNA'larının apoptozda işlevi olduğu gösterilmiştir³². Bugüne kadar pro- apoptotik aktiviteye ve anti-apoptotik aktiviteye sahip birçok miRNA tipleri belirlenmiştir^{30,33,34} (Tablo 2). Bir miRNA'nın anti-apoptotik veya pro-apoptotik etkisi apoptozu ya da yaşamı içeren genlerin hücredeki spesifik ekspresyonuna bağlıdır³⁰.

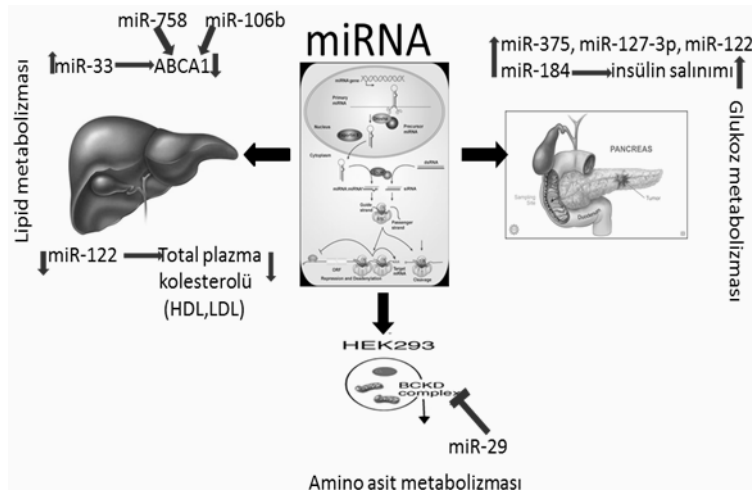
Tablo 2. Apoptoziste İşlevi Olan miRNA'lar^{33,34}.

Hedef Gen	miRNA tipi
Pro-apoptotik	
CDC42 ve p85α (p53↑)	miR-29a, miR-29b, miR-29c
14-3-3Ç	miR-375
SIRT1, CDK4, E2F3	miR-34a,b,c
BLC-2	miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-29 ailesi, miR-34, miR-34c, miR-143, miR-153, miR-181a, miR-181b, miR-195
BCL-W	miR-15b, miR-122, miR-133b

BCL-XL	miR-491, let-7c, let-7g
MCL1	miR-15a, miR-16-1, miR-29 ailesi, miR-101, miR-133b, miR-153, miR-193b
PED	miR-212
c-FLIP	miR-512-3p
API-5	miR-224
E2F1	miR-93, miR-106b, miR-149
HSP60, HSP70	miR-1
RAS, HMGA2, MYC	Let7 ailesi
DNMT3A, DNMT3B	miR29a,b,c
Anti-apoptotik	
Kaspaz 10	miR-186
Kaspaz 9	miR-24a, miR-133
Kaspaz 3	Let 7a
p27 ^{kip1}	miR-221, miR-222
Fas L	miR-21
FAF 1	miR-24
FAP-1	miR-200c
PTEN	miR-17-5p, miR-19, miR-21, miR-221, miR-222
BIM	miR-17-5p, miR-19, miR-25, miR-32, miR-92, miR-181a
p21	miR-17-5p, miR-106b, miR-93
PUMA	miR-221, miR-222, miR-483-3p, miR-BART5
BAK 1	miR-125b
BAX	miR-128
E2F	miR-17-92
PDCD4, TMP1, RECK	miR-21
BCL211	miR-106b-25
ERK5	miR-143
RTKN	miR-145

miRNA'ların Metabolizmadaki İşlevleri

miRNA'lar metabolizmanın ana düzenleyicileridir. İlk kez 2003 yılında omurgasız canlılardan *Drosophila*'da yapılan çalışmada miR-14'ün lipid metabolizmasında işlevinin olduğu gösterilmiştir. miR-14'ün inhibisyonunun total vücut triaçilgliserol(TAG) miktarının ikiye katlanmasına neden olduğu bildirilmiştir²². Günümüzde yapılan çalışmaların sonucuna göre miRNA'ların glukoz, lipid ve amino asit metabolizmasının düzenlenmesinde aktif rol oynadığı bilinmektedir³⁵⁻³⁷ (Şekil 6).



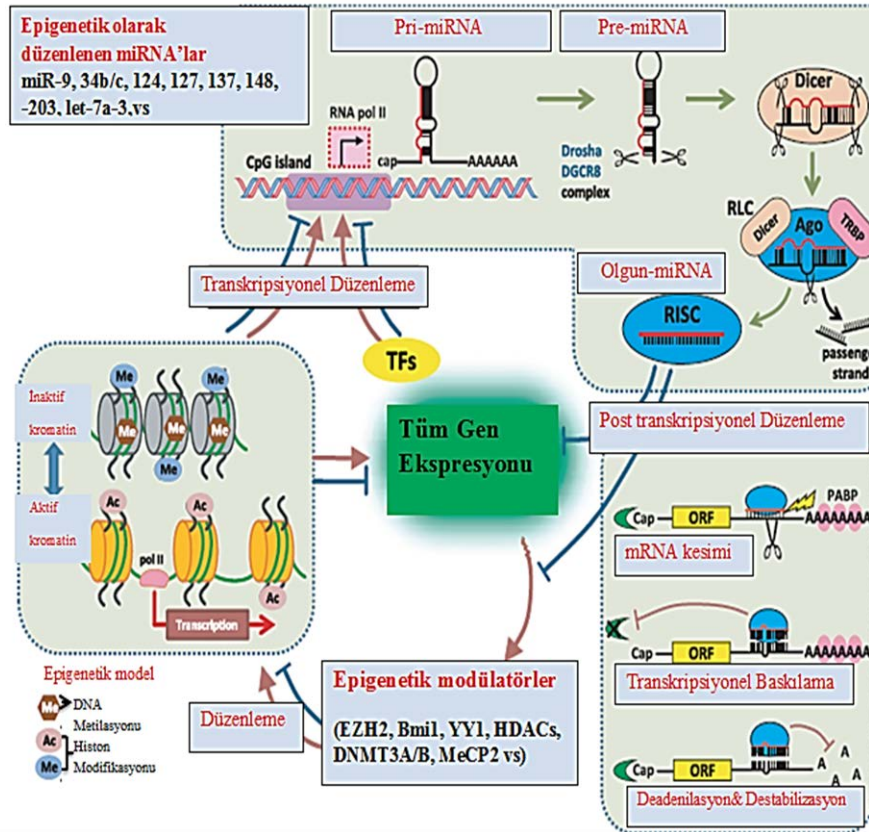
Şekil 6. Metabolizmada Etkili miRNA Tipleri³⁵⁻³⁷.

miRNA'lar ve Epigenetik

Epigenetik DNA dizisinde değişiklik olmaksızın gen ifadesi üzerinde mitoz ve mayoz bölünme ile aktarılan kalıtsal değişikliklerdir. Epigenetik, gen ifadesini DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları ile kontrol etmektedir³⁸. Epigenetik mekanizmasında meydana gelebilecek değişiklikler konjenital bozukluklara, multisistem pediyatrik sendromlara ya da sonradan ortaya çıkabilecek kanser ve nörodejenerasyonlara neden olmaktadır³⁹.

miRNA'ların biyogenez süreci çok iyi bilinmesine rağmen hala düzenlenmesi tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Protein kodlayan genlere benzer olarak miRNA kodlayan genlerde,

epigenetik mekanizmanın kontrolü altındayken, bazı miRNA'lar da dolaylı ya da doğrudan epigenetik mekanizmada işlevi olan faktörleri düzenlemektedir^{40,41}(Şekil 7). Saito ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi epigenetik mekanizmaların miRNA'ların ifadesini düzenlediğini göstermişlerdir. Kanser hücre hatlarına DNA metilasyonu inhibitörü ve histon deasetilasyonu inhibitörü olan 4-fenil bütirik asit içeren 5-AzaCdR ilave edildiğinde özellikle miR-127 ekspresyon seviyesinin kayda değer biçimde arttığı gözlenmiştir^{38,42}.



Şekil 7. Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesinde Epigenetik Mekanizmanın ve miRNA'ların İşlevi^{40,41}.

Mitokondrideki miRNA'lar

Kendi genomuna sahip olan mitokondrinin ana işlevi hücrelerin fizyolojik ihtiyaçları için gerekli enerjiyi oksidatif fosforilasyonla gerçekleştirmektir. Mitokondride 2000'den fazla protein bulunduğu halde mitokondrial genom sadece 13 protein kodlamaktadır. Mitokondrial proteinlerin çoğunluğu nükleer genler tarafından kodlanır ve sitozolde sentezlenerek sonradan mitokondriye geçmektedir^{43,44}. Son zamanlarda birçok patofizyolojik durumlarda kısa kodlanmayan RNA'larla mitokondrilerin gittikçe artan işlevlerinin ortaya çıkışı ve mitokondiler ile kısa kodlanmayan RNA'lar arasında olası bir ilişkinin varlığı bilim insanlarının dikkatini çekmiştir. Farklı hücre hatlarından kaynaklı mitokondriyal transkriptomda kodlanmayan RNA'ların (piRNA, snRNA, snoRNA, srpRNA ve miRNA) varlığı gösterilmiştir. Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda mitokondri kaynaklı miRNA'ların (mitomiRs) bazı tipleri rat, fare ve insanların farklı hücre hatlarından izole edilmiştir⁴⁵ (Tablo 3).

Tablo 3. Mitokondride Bulunan miRNA Tipleri⁴⁵.

Mitokondri Kaynağı	miRNA Tipi
Fare Karaciğeri	mmu-miR-202-5p, mmu-miR-122, mmu-miR-223, mmu-miR-134, mmu-miR-709, mmu-miR-720, mmu-miR-680, mmu-miR-494, mmu-miR-155
Rat Karaciğeri	rno-miR-130a, rno-miR-130b, rno-miR-140, rno-miR-320, rno-miR-494, rno-miR-671
İnsan miyotübülü	hsa-miR-720, hsa-miR-133b, hsa-miR-1974, hsa-miR-24, hsa-miR-133a, hsa-miR-125a-5p, hsa-miR-1979, hsa-miR-103, hsa-miR-125b, hsa-miR-103, hsa-miR-221, hsa-miR-23a, hsa-let-7b, hsa-miR-423-3p, hsa-miR-106a, hsa-miR-23b, hsa-miR-92a, hsa-miR-193b, hsa-miR-365, hsa-miR-93, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-20a, hsa-miR-149, hsa-miR-181a, hsa-miR-503, hsa-miR-210, hsa-miR-107, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-34a, hsa-let-7g, hsa-miRPlus-D1033, hsa-miR-19b, hsa-miR-197, hsa-miR-324-3p, hsa-miR-127-3p, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-484, hsa-miR-151-5p, hsa-miR-486-5p, hsa-miR-542-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-501-3p, hsa-miR-675, hsa-miR-134, hsa-miR-490-3p, hsa-miR-598
İnsan HeLa	hsa-miR-1973, hsa-miR-1275, hsa-miR-494let-7b, let7g, hsa-miR-107, hsa-miR-181a, hsa-miR-221, hsa-miR-320a
İnsan 143-B	hsa-miR-146a, hsa-miR-103, hsa-miR-16
İnsan HEK293	let-7b, let7g, hsa-miR-107, hsa-miR-181a, hsa-miR-221, hsa-miR-320a

miRNA'lar ve Kelebek Etkisi

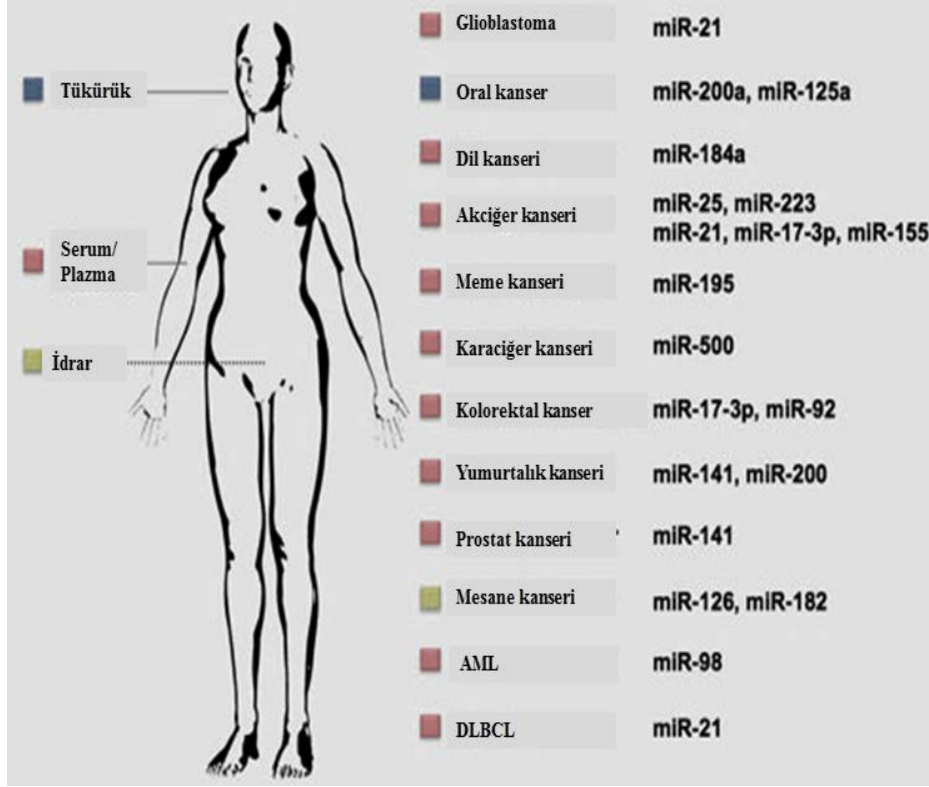
Edward Lorenz 1979 yılında bir toplantıda "Brezilya'da kanat çırpan bir kelebek Teksas'ta fırtınaya sebep olur mu?" sorusuyla ünlü kaos teorisini öne sürmüştür. Bu teoriye göre küçük bir olayın büyük sonuçlara neden olabileceği ileri sürülmüştür. Aynı soru miRNA'lar için de kurgulanabilir. "Acaba miRNA'lardaki en ufak değişiklik tüm gen ekspresyonunu etkiler mi?". miRNA'ların etkilerine bakıldığında 1000'den fazla molekülün birincil, ikincil ve üçüncül yapılarıyla etkileşime girerek birçok biyokimyasal yolların düzenlenmesinde görev aldığı bilinmektedir. Birçok biyokimyasal yollarda işlev görmesine rağmen tüm hücre, organ veya organizma düzeyleri açısından miRNA'lar belli bölgeleri hedeflemektedir. miRNA'ların hedef bölgelerini hangi kurallara göre belirledikleri henüz anlaşılamamıştır. Seed region adı verilen tohum dizilerinin ve tohum bölgesi olmayan dizilerin yanlış eşleşmesi miRNA-mRNA dublekslerinin termodinamik stabiliteyi nasıl etkilediği ve miRNA-mRNA dubleksinin oluşumunun başlangıcı için miRNA ve mRNA seviyelerinden hangisinin daha etkin olduğu olasılığının kaotik olduğu ileri sürülmüştür⁴⁶. Lee ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışmada, pre-miR-155'in 3' bölgesinde bir nükleotit değişimi ile mutant miR-155'i oluşturmuşlar, buna göre hem normal hem de mutant miR-155'i standart seçilime gönderdiklerinde mutant miR-155'in normal miR-155'e göre daha çok tercih edildiğini bu durumun tüm gen ekspresyonunun etkilenmesine neden olabileceği öne sürülmüştür⁴⁷.

miRNA'ların Tıpta Kullanım Alanları

Memelilerin transkriptinin %60'ından fazlası miRNA'ların kontrolü altındadır¹¹. Canlıların farklı hücre tiplerinde farklı miRNA tipleri ekspres olmaktadır. Günümüzde birçok hastalığın tanısında, prognozunda ve tedavisinde miRNA'ların kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır⁴⁸. miRNA'larla hastalıkların tanısı için; serum, beyin-omurilik sıvısı, göz sıvısı, süt, safra, karın zarı sıvısı, ovaryen folikül sıvısı, idrar, tam kan, nazal sekresyon, tükürük, plevral efüzyon ve feçes gibi biyolojik sıvı ve dokular kullanılmaktadır^{11,40,49-51}.

Biyobelirteç olarak kullanılması planlanan miRNA'ların ilk kez serumdaki varlığı Lawrie ve arkadaşları tarafından 2008 yılında gösterilmiştir⁵². Dolaşımdaki miRNA'lar lipid veya lipoprotein kompleksini içeren mikrovezikül (1µm ve üstü) veya ekzosom (10-100nm) adı verilen endositik kaynaklı küçük membran küçük veziküllerin içinde yer aldığından çok kararlı olup kimyasal modifikasyonlardan ve RNAaz aktivitesinden etkilenmediği bildirilmiştir^{53,54}.

Günümüzde çeşitli hastalık tiplerinde ve aşamalarında hastalıklı dokularla sağlıklı dokular arasında miRNA'ların ekspresyonlarının farklı olduğu belirlenmiştir. Bu da hastalıkların tanısında ve prognozunda miRNA'ların kullanılabileceğini göstermektedir⁵⁴ (Şekil 8).



Şekil 8. Bazı Hastalıklara Özgü miRNA Tipleri⁵⁴.

Bir çok çalışmada miRNA'ların spesifik olarak çeşitli hastalıklarda azalan ya da artan ekspresyon düzeyleri onların sadece tanı ya da prognoz alanında değil aynı zamanda tedavide de kullanılabileceğini göstermektedir.

İlk kez 2002 yılında Calin ve arkadaşları tarafından miR-15 ve miR-16 tiplerinin B-hücreli kronik lenfositik lösemi ile ilişkisinin olduğu bildirilmiştir⁵⁵. Araştırmalar sonucunda miRNA genlerinin %50'den fazlasının kanserle ilişkili genomik alanlarda veya frajil sitelerde lokalize

olduğu ve tümör baskılayıcısı gibi davranarak onkogenleri inhibe ettikleri veya onkogen gibi davranarak tümör baskılayıcıları inhibe ettikleri gösterilmiştir^{53,56}. Kanserle ilgili çalışmaların yanı sıra miRNA'ların birçok hastalıkla ilişkisinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Zhao ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada kardiyak ve iskelet kasının prekürsör hücrelerinde miR-1-1 ve miR-1-2'nin eksprese olduğu ve miR-1'in ventiküler kardiyomiyositleri düzenlediği bildirilmiştir⁵⁷. Wienholds ve arkadaşları 2005 yılında Zebra balığı üzerinde yaptıkları çalışmada bazı miRNA'ların santral sinir sistemine spesifik olduğunu rapor etmişlerdir⁵⁸.

Tablo 4. miRNA'ların tedavide kullanımı⁶⁴.

Şirket	Hastalıklar	Kimyasal formu	Basamak
Regulus Therapeutics	İmmünoinflamatuvar, Kardiyovasküler, Metabolik hastalıklar, Onkoloji, Fibrozis ve Hepatit C enfeksiyonu	miRNA inhibitörleri (2'-metoksietil, 2'-fluoro RNA, bisiklik riboz modifikasyonu)	Preklinik
Santaris Pharma A/S	Kanser, İnflamatuvar hastalıklar ve Hepatit C enfeksiyonu	miRNA inhibitörü (nükleik asit kimyasını bloke ederek)	miR-122 inhibitörü: faz I tamamlandı, faz II başlangıç
miRagen Therapeutics	Kardiyovasküler ve Kas hastalıkları	miRNA inhibisyonu ve yerine geçme	Preklinik
Mirna Therapeutics	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve prostat kanseri	siRNA'yı kullanarak miRNA'nın yerine geçme	Preklinik

Diğer bir çalışmada Leidenger ve arkadaşları 2013 yılında 48 Alzheimer hastası ve 22 kontrol grubunda yaptıkları çalışmada 12 miRNA tipinin ekspresyon seviyelerini RT-qPCR yöntemi ile belirlemişlerdir. Alzheimer hastalarında Let-7d-3p, miR-26a-5p, miR-112, miR-151a-3p, miR-161, miR-1285-5p ve miR-5010-3p tiplerinin ekspresyon düzeyleri yüksek iken, Let-7f-3p, miR-26b-5p, miR-103a-3p, miR-107, ve miR-532-5p tiplerinin ekspresyon düzeylerinin düşük olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda Alzheimer'lı olguların miRNA ekspresyon düzeylerinin multipl skleroz, parkinson, majör depresif bozukluk, bipolar bozukluk ve şizofrenisi olan olgulardan farklı olduğu gösterilmiştir⁵⁹. Romatoid artrit (RA) miRNA ile ilişkisi 2008 yılında 3 farklı çalışma ile gösterilmiştir. Stanczyk ve arkadaşları miR-155 ve miR-146'nın RA sinoviyal

fibroblastlarında ve RA sinoviyal dokusunda ekspresyonlarının arttığını, Nakasa ve arkadaşları miR-146'nın TNF ve IL-1'in uyarılmasıyla RA sinoviyal dokusunda ekspresyonlarının arttığını ve Pauley ile arkadaşları miR-146'nın RA periferel kanının mononükleer hücrelerinde ekspresyonlarının arttığını bildirmişlerdir⁶⁰⁻⁶².

miRNA'ların tüm hücrelerde bulunduğu göz önüne alındığında çok sayıda hastalıklarla olan ilişkisi şaşırtıcı değildir. Günümüzde birçok bilim insanının miRNA'ların antagonistlerini ya da mimiklerini sentezleyerek yeni tedavi yöntemleri geliştirmeyi hedefledikleri bilinmektedir. Sentetik yapıdaki miRNA antagonistlerin ve mimik miRNA'nın asıl miRNA gibi hedef mRNA'ya bağlanarak translasyonu susturduğu birçok çalışmada gösterilmiştir^{63,64} (Tablo 4).

Sonuç

mRNA'ların negatif post-transkripsiyonel düzenleyicileri olan 18-25nt uzunluğundaki miRNA'ların her biri mRNA'nın yüzlercesine bağlanıp gen ekspresyonunu düzenlerken ya da bir mRNA yüzlerce miRNA tarafından ekspresyon seviyeleri düzenlenmektedir^{10,65}. Büyüme, gelişme, farklılaşma ve apoptozis gibi birçok biyolojik süreçte işlevi olan miRNA'ların çeşitli hastalıkların tanı, prognoz ve tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır^{66,67}. Ancak miRNA'ların mRNA'lara tam komplementer olarak bağlanmaması ve birçok mRNA'ya bağlanması sebebiyle tedavide kullanılması halinde beklenen etkilerinin yanısıra farklı biyolojik olayların gelişmesine sebep olacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

1. Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res*. 2011;90:430-40.
2. Güzelgöl F. Orak hücreli anemilerde miRNA ekspresyon düzeylerinin RT-PCR ile belirlenmesi (Doktora tezi). Adana, Çukurova Üniversitesi, 2014.
3. Güzelgöl F, Aksoy K. Kodlanmayan RNA'ların işlevi ve tıpta kullanım alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2009;18:141-55.
4. Pauli A, Rinn JL, Schier AF. Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis. *Nat Rev Genet*. 2011; 12:136-49. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843-54. Jha A, Mehra M, Shankar R. The regulatory epicenter of miRNAs. *J Biosci*. 2011;36:621-8. 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;403:901-6.

8. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res.* 2011;717:1-8. miRBase: the microRNA database <http://www.mirbase.org/index.shtml> (Accessed: January 2015). Wei F, Yue F. MicroRNAs in neural cell development and brain diseases. *Sci China Life Sci.* 2011;54:1103-12.
11. Bissels U, Bosio A, Wagner W. MicroRNAs are shaping the hematopoietic landscape. *Haematologica.* 2012;97:160-7.
12. Großhans H. Regulation of microRNAs. Eds. New York, Springer Science Business Media, 2010.
13. Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and function. *Tromb Haemotology.* 2012;107:605-10.
14. Curtis HJ, Sibley CR, Wood MJA. Mirtrons, an emerging class of atypical miRNA. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2012; 3:617-32.
15. Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.* 2004; 23:4051-60.
16. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.* 2006;13:1097-101.
17. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet.* 2004;5:522-31.
18. Ladewig E, Okamura K, Flynt AS, Westholm JO, Lai EC. Discovery of hundreds of mirtrons in mouse and human small RNA data. *Genome Res.* 2012;22:1634-45.
19. Westholm JO, Lai EC. Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing. *Biochimie.* 2011;93:1897-904. Havens MA, Reich AA, Duelli DM, Hastings ML. Biogenesis of mammalian microRNAs by a non-canonical processing pathway. *Nucleic Acids Res.* 2012;40:4626-40. Fan P, Chen Z, Tian P, Liu W, Jiao Y, Xue Y et al. miRNA biogenesis enzyme drosha is required for vascular smooth muscle cell survival. *PLoS ONE.* 2013;8:1-11. Rottlan N, Hernando CF. MicroRNA regulation of cholesterol metabolism. *Cholesterol.* 2012;2012:1-8.
23. Hentze MW, Preiss T. Circular RNAs splicing's enigma variations. *EMBO J.* 2013;32:923-5. Ledford H. Circular RNAs throw genetic for a loop. *Nature.* 2013;494:415.
25. Gangaraju VK, Lin H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10:116-25.
26. Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci.* 2007;32:189-97.
27. Le MT, Xie H, Zhou B, Chia PH, Rizk P, Um M et al. MicroRNA-125b promotes neuronal differentiation in human cells by repressing multiple targets. *Mol Cell Biol.* 2009;29:5290-305. Ambros V. MicroRNAs and developmental timing. *Curr Opin Genet Dev.* 2011;21:511-17.
29. Williams AE, Moschos SA, Perry MM, Barnes PJ, Lindsay MA. Maternally imprinted microRNAs are differentially expressed during mouse and human lung development. *Dev Dyn.* 2007;236: 572-80.

30. Wang Z. *MicroRNA Interference Technologies*. Berlin, Springer, 2009. Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2009;84:55-71. Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene *hid* in *Drosophila*. *Cell*. 2003;113:25-36. Subramanian S, Steer CJ. MicroRNAs as gatekeepers of apoptosis. *J Cell Physiol*. 2010;223:289-98. Lima RT, Busacca S, Almeida GM, Gaudino G, Fennell DA, Vasconcelos MH. MicroRNA regulation of core apoptosis pathways in cancer. *Eur J Cancer*. 2011;47:163-74. Krützfeldt J, Stoffel M. MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism. *Cell Metab*. 2006;4:9-12.
36. Poy MN, Spranger M, Stoffel M. MicroRNAs and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetes Obes Metab*. 2007;9:67-73. Rottiers V, Näär AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13:239-50. Chuang JC, Jones PA. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res*. 2007; 61:24-9. Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ*. 2006;174:341-48. Natarajan SK, Smith MA, Wehrkamp CJ, Mohr AM, Mott JL. MicroRNA function in human diseases. *Med Epigenet*. 2013;1:106-15.
41. Tunalı NE, Tiryakioğlu NO. Kanserde mikroRNA'ların rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2010;30:1690-700.
42. Saito Y, Liang G, Egger G, Friedman JM, Chuang JC, Coetzee GA et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene *BCL6* by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell*. 2006;9:435-43.
43. Das S, Ferlito M, Kent OA, Fox-Talbot K, Wang R, Liu D et al. Nuclear microRNA regulates the mitochondrial genome in the heart. *Circ Res*. 2012;110:1596-603.
44. Li P, Jiao J, Gao G, Prabhakar BS. Control of mitochondrial activity by miRNAs. *J Cell Biochem*. 2012;113:1104-10.
45. Sripada L, Tomar D, Singh R. Mitochondria: one of the destinations of miRNAs. *Mitochondrion*. 2012;12:593-99.
46. Dorn GW II, MicroRNAs and butterfly effect. *Cell cycle*. 2013;12:707-8.
47. Lee HC, Yang CW, Chen CY, Au LC. Single point mutation of microRNA may cause butterfly effect on alteration of global gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;404:1065-69.
48. Fiorucci G, Chiantore MV, Mangino G, Percario ZA, Affabris E, Romeo G. Cancer regulator microRNA: potential relevance in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Curr Med Chem*. 2012;19:461-74.
49. Xiao YF, Yong X, Fan YH, Lü MH, Yang SM, Hu CJ. MicroRNA detection in feces, sputum, pleural effusion and urine: novel tools for cancer screening. *Oncol Rep*. 2013;30:535-44.

50. Lässer C, O'Neil SE, Ekerljung L, Ekström K, Sjöstrand M, Lötval J. RNA-containing exosomes in human nasal secretions. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25:89-93.
51. Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res*. 2009;15:5473-77.
52. 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;141:672-75.
53. Yousef M, Allmer J. *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. New York, Humana Press, 2014.
54. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*. 2010;101:2087-92.
55. 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 USA*. 2002;99:15524-29.
56. Weiler J, Hunziker J, Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): ammunition to target miRNAs implicated in human disease? *Gene Ther*. 2006;13:496-502.
57. Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand 2 during cardiogenesis. *Nature*. 2005;436:214-20.
58. Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*. 2005;309:310-1.
59. Leidinger P, Backes C, Deutscher S, Schmitt K, Mueller SC, Frese K et al. A blood based 12-miRNA signature of Alzheimer disease patients. *Genome Biol*. 2013;14:78.
60. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE et al. Altered expression of microRNA in synovial fibroblast and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2008; 58:1001-09.
61. Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum*. 2008;58:1284-92.
62. Pauley KM, Satoh M, Chan AL, Bubb MR, Reeves WH, Chan EK. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cell from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:101.
63. van Rooij E, Purcell AL, Levin AA. Developing microRNA therapeutics. *Circ Res*. 2012;110:496-507.
64. Broderick JA, Zamore PD. MicroRNA therapeutics. *Gene Therapy*. 2011; 18:1104-10.
65. Bissels U, Wild S, Tomiuk S, Hafner M, Scheel H, Mihailovic A et al. Combined characterization of microRNA and mRNA profiles delineates early differentiation pathways of CD133⁺ and CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem Cells*. 2011;5:847-57.

66. Silahtaroglu A, Stenvang J. MicroRNAs epigenetic and disease. *Essays Biochem.* 2010;48:165-85.
67. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signature in human cancers. *Nat Rev Cancer.* 2006;6:857-66.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Figen Güzelgöl
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Adana, Turkey.
e-mail: figenguzelgul@gmail.com