

Tedavi yaklaşımlarında yeni bir dönem: Kodlamayan RNA'lar ve hastalıklar

The new era in therapeutic approaches: Non-coding RNAs and diseases

Zülfiye Yeliz AKKAYA, Pervin DİNÇER

ÖZET

Yeni ribonükleik asit (RNA)'lerin bulunması ve işlevlerinin tanımlanmasıyla, RNA'ların canlı yaşamı için çok önemli süreçlerde rol oynadıkları belirlenmiştir. Özellikle insan genomunun %62'sini (ENCODE Consortium) kapsayan ncRNA (kodlamayan RNA)'ların hücrel savunmada, gelişimsel süreçlerde, farklılaşmada, DNA replikasyonunda, transkripsiyonda ve post-transkripsiyonel susturumda görev aldıkları gösterilmiştir. ncRNA'larda meydana gelen bozukluklar birçok hastalığa yol açmaktadır. İlişkili oldukları hastalıklardan bazıları kanserler, nörodejeneratif hastalıklar, immün yetmezlik hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklardır. Hastalıklardan sorumlu oldukları düşünülen ncRNA'lar, yeni tedavi yaklaşımlarında hem hedef hem de araç olarak görülmektedirler. İnsan genomundaki tüm ncRNA'ların işlevlerinin aydınlatılmasıyla yeni tedavi yaklaşımları geliştirilebilecektir. Bu derlemede, kodlanmayan RNA'ların çeşitleri, hastalıklarla olan ilişkileri, ve tanı-tedavi amaçlı kullanımlarıyla ilgili literatüre dayalı değerlendirme yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kodlamayan RNA'lar, Hastalıklar, Tedavi

ABSTRACT

As a result of finding novel ribonucleic acid (RNA)'s and identifying their functions, it is now known that RNAs play a very important role for living organisms. Particularly, the ncRNAs (non-coding RNAs), which cover 62% of the genome, participate in the regulation of important processes such as cellular defense, development, differentiation, DNA replication, transcription and post-transcriptional silencing. Not surprisingly, therefore, their disruption has been linked to diseases such as cancers, neurodegenerative diseases, immunodeficiency, and cardiovascular diseases. ncRNAs have become the targets and tools of novel therapeutic approaches. By the help of identifying all functional ncRNAs that are encoded in the human genome, new therapeutic approaches may be developed and clinical trials using ncRNA-based molecules may be achieved. In this paper, we review the

literature regarding the types of ncRNAs, their relation to diseases, and new diagnostic-therapeutic approaches.

Key words: Non-coding RNAs, Diseases, Therapeutic applications

Giriş

Yeni nesil dizileme yöntemi sayesinde yapılan büyük ölçekli genom dizilemesi şaşırtıcı sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Gelişmiş canlılarda daha fazla gen olabileceği beklentisinin aksine insanda ve farede, mikroskopik boyutta bir yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'daki kadar protein kodlayan gen bulunmuştur. Hatta bu zamana kadar elde edilen DNA dizileme bulguları, çok hücreli canlıların çoğunun tek hücreli canlılardan daha az protein kodlayan gen içerdiğini göstermektedir [1]. Bu paradoksun açıklaması iki bulguda gizlidir: 1) Genomun farklılığı ve karmaşık yapısı protein kodlamayan bölgelerden kaynaklanmaktadır [1]. 2) Memeli genomunun sadece %3'lük kısmı protein kodlayan mesajcı RNA (mRNA)'ları ifade etmektedir. Geri kalan %97'lik kısmın çoğu uzun ve kısa protein kodlamayan RNA'lardan (ncRNA) oluşmaktadır [2,3]. Önceleri sadece bilgiyi depolayan ve DNA ile protein arasında basit bir bilgi taşıyıcısı olarak görülen RNA'nın, organizmaların gelişiminde önemli bir rol oynadığı ve kilit bir molekül olduğu artık bilinmektedir [4].

Kodlamayan RNA'ların sınıflandırılması

ncRNA'lar, biyolojik reaksiyonların katalizlenmesinden hücrel savunmaya, gelişimsel süreçlerden hücrel cevaba kadar pek çok göreve sahiptir [3,5]. ncRNA'ların diğer işlevleri arasında transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel gen susturumu [6] ve kromozomların yeniden modellenmesi [7] de yer almaktadır.

Tanımlanan ve fonksiyonu aydınlatılan ncRNA'ların sayısı her geçen gün artmaktadır. ncRNA'lar yaygın olarak uzunluklarına göre sınıflandırılmaktadır. ncRNA'ların büyük bir kısmı kısa düzenleyici RNA'lardan oluşmaktadır. Bu RNA'lar, RNA enterferans (RNA *interference*-RNAi) mekanizması ile gen susturumunu sağlayan moleküllerdir. Bu mekanizma, milyarlarca yıl önce, hücrelere saldıran virüslere

Zülfiye Yeliz Akkaya (✉)

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

e-mail: akkayayeliz@gmail.com

Pervin Dinçer

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Gönderilme/Submitted: 26.10.2012 - Kabul/Accepted: 13.12.2012

Tablo I. RNA Tipleri

İsim	Uzunluk	İnsandaki Sayısı	Fonksiyonu	Örnekler	Referans
Kısa ncRNA'lar					
miRNA	19-24 bç	>1,424	mRNA'ların düzenlenmesi	miR-15/16, miR-124a, miR-34b/c, miR-200	23
piRNA	26-31 bç	23,439	Germ hücrelerinde transpozon baskılanması, DNA metilasyonu	RASGRF1 LINE1 ve IAP elementlerini hedefleyen piRNA'lar	24
tiRNA	17-18 bç	>5,000	Transkripsiyonun düzenlenmesi	Hedefi <i>CAP1</i> geni olan	25
Orta ncRNA'lar					
snoRNA	60-300 bç	>300	rRNA'nın modifikasyonları	U50, SNORD	26
Uzun ncRNA'lar					
lncRNA	>200 bç	>1000	DNA-kromatin kompleksinde <i>scaffold</i> işlevi	<i>HOTAIR</i> , <i>HOTTIP</i> , <i>lincRNA-p21</i>	27
Diğer lncRNA'lar	>200 bç	>3000	X kromozomunun inaktivasyonu	<i>XIST</i> , <i>TSIX</i> , TERRAs, <i>p15AS</i> , <i>H19</i> , <i>HYMAI</i>	27

bç: Baz çifti, mRNA: Mesajcı RNA, rRNA: Ribozomal RNA, ncRNA: Kodlamayan RNA, XIST: X-inaktivasyon spesifik transkript, TSIX: X-inaktivasyon spesifik *antisense* transkript, lincRNA: Uzun intergenik kodlanmayan RNA, CAP1: CAP, adenilat siklaz ilgili protein 1, HOTAIR: *Homeobox* (HOX) transkript *antisense* RNA, HOTTIP: HOXA distal transkript *antisense* RNA, HYMAI: *Hydatidiform mole associated ve imprinted*; IAP: Intrasisitemal A-parçası, lncRNA: Uzun kodlamayan RNA, miRNA: Mikro RNA, piRNA: PIWI proteinini ile etkileşimi olan RNA, RASGRF1: RAS-protein-spesifik guanin nükleotid salan faktör 1, snoRNA: Küçük nükleolar RNA, TERRA: Telomerik tekrar içeren RNA, tiRNA: Transkripsiyon başlatıcı RNA.

karşı geliştirilmiş bir savunma mekanizmasıdır. Günümüzde artık, RNAi mekanizmasının gelişim, farklılaşma, hücre çoğalması ve apoptoz gibi önemli süreçlerin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir [8]. Kısa düzenleyici RNA'ların uzunlukları 15-40 baz çifti arasında değişmektedir. Bunlara örnek olarak siRNA (*small interfering* RNA), mikro RNA (miRNA) ve PIWI (*P-element induced wimpy testis*) proteini ile etkileşimi olan RNA (piRNA) verilebilir [9]. piRNA'lar, PIWI proteinleriyle bir araya gelerek ribonükleoprotein yapısı oluşturmaktadırlar. Germ-line hücrelerinde, özellikle spermatogenezde retrotranspozonların ve diğer genetik elementlerin susturulmasını sağlamaktadırlar [10]. Ancak piRNA'ların etki mekanizması halen anlaşılammıştır [11].

Post-transkripsiyonel modifikasyonda veya DNA replikasyonunda görevli, orta uzunluğa sahip ncRNA'lar ise küçük nükleolar RNA (snRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA), rehber RNA (gRNA), ribonükleaz P (RNaz P) ve telomeraz RNA'dır [12]. Bu sınıftaki RNA'ların uzunlukları ise 40-200 baz çifti arasındadır. snRNA'lar, ökaryotlarda çekirdekte bulunan küçük RNA molekülleridir. Transkripsiyonları RNA polimeraz II veya III tarafından gerçekleştirilir. RNA *splicing*/kırılma mekanizmasında görevli olup, spliceozom kompleksini oluştururlar. snoRNA'lar, RNA biyogenezinde oldukça önemlidirler. Ribozomal RNA (rRNA)'ların, taşıyıcı RNA (tRNA)'ların ve snRNA'ların kimyasal modifikasyonlarında görevlidirler [13]. gRNA'lar ise *Trypanosoma brucei* gibi kinetoplastidlerin mitokondrisindeki urasil delesyonu ve insersiyonuyla düzenlenen RNA *editing* editozomunda yer alırlar [14]. RNaz P, RNA polimeraz III tarafından ifade edilen çeşitli ncRNA'ların transkripsiyonu için gereklidir

ve oldukça yüksek bir katalitik aktiviteye sahiptir [15]. Telomeraz RNA, telomeraz enzimi tarafından kalıp olarak kullanılır. Telomeraz, kromozomların telomer bölgelerine spesifik olan DNA dizi tekrarları ekleyen bir enzimdir. Telomerler her hücre bölünmesinde kısılır ve sonra telomeraz tarafından normal uzunluğuna geri getirilir [16].

Bunların dışında fonksiyonları tam olarak tanımlanmamış kısa ve orta uzunlukta ncRNA'lar da mevcuttur. Bu ncRNA'lardan orta uzunlukta *vault* RNA (vRNA)'nın ilaç direncini düzenlediği [17], Y RNA'nın Ro proteinine bağlanarak DNA replikasyonunu düzenlediği düşünülmektedir [18]. İnsan Y RNA'sının degradasyonu ile kromozomal DNA replikasyonun inhibe edildiği, aşırı ve kontrolsüz bölünme özelliği kazanmış insan tümör hücrelerinde Y RNA'ların yüksek düzeyde eksprese edildiği görülmüştür [19]. Kısa küçük RNA (tiRNA)'ların ise, transkripsiyonun başlamasından sorumlu olduğu düşünülmektedir [20].

Nükleotit sayısı 200'den daha uzun olan ncRNA'lar uzun kodlamayan RNA (*long non-coding RNAs*-lncRNAs) olarak tanımlanmaktadır [4]. lncRNA'lar, gene özgül transkripsiyon düzenleyicileridir [21].

Uzunluğa göre RNA'ların sınıflandırılması ve RNA tipleriyle ilgili örnekler Tablo I'de verilmiştir [22].

Kodlamayan RNA'ların hastalıklarla ilişkisi

ncRNA'lar birçok önemli işleve sahiptir bu nedenle bu RNA'larda meydana gelen bozukluklar hastalıklarla doğrudan ilişkilidir [8]. Örneğin miRNA'lar karaciğer, pankreas, özefagus, mide, kolon, prostat, tiroid, göğüs, yumurtalık ve beyin kanserlerinde [28,29]; şizofreni ve

Alzheimer hastalığı gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarında [30] ve kardiovasküler hastalıklarda [31] farklı ifade profilleri göstermektedir. miRNA'ların onkogen veya tümör baskılayıcı gibi görevlere sahip olmalarından ötürü tümör oluşumunda kilit bir rol oynadıkları düşünülmektedir. Kanserdeki miRNA düzensizlikleri epigenetik ve genetik değişikliklerden kaynaklanmaktadır [32]. miR-15 ve miR-16'da meydana gelen bozuklukların, 13q14 kromozom delesyonuna neden olarak kronik lenfositik lösemisiye yol açması ile miRNA'ların kanser gelişim süreci ile ilişkisi ilk kez gösterilmiştir [33]. Sonrasında farklı kanser türleriyle miRNA'ların ilişkisi belirlenmiştir. İnsan tümörlerinde yaygın olarak miRNA ifade düzeyinde azalma görülmektedir.

Fonksiyonları tam olarak anlaşılamamış olmalarına rağmen piRNA'ların ve piRNA-benzeri transkriptlerin özellikle eşey hücresi tümörlerinin oluşumunda özgün rolleri olduğu düşünülmektedir. PIWI proteinlerinden PIWIL1 ve PIWIL2'nin testis tümörlerinde aşırı ifade edildiği tespit edilmiştir [34]. PIWIL1'nin hücre döngüsünün durdurulmasına yol açtığı [35], PIWIL2'nin ise anti-apoptotik etkisinin olduğu bulunmuştur. PIWIL2'nin aşırı ifade edildiği durumda, DNA tamir mekanizmasının normal şekilde çalışmasını bloke ettiği belirlenmiştir [36]. PIWI ile ilişkili RNA'ların insan somatik tümörlerinde de yüksek oranda ifade olması, PIWI yolağının bilinen aksine sadece eşey hücrelerinde aktif ve fonksiyonel olmadığını göstermektedir.

snoRNA'ların da çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. snoRNA'ların küçük hücreli olmayan akciğer kanseriyle bağlantısı bulunurken, snoRNP adı verilen protein ve snoRNA bileşimiyle oluşan ribonükleoproteininin ise epitelial kanserlerden sorumlu olduğu tespit edilmiştir [37]. Yapılan diğer çalışmalarda, U50 snoRNA'sında homozigot olarak meydana gelen iki bazlık (TT) bir delesyonun, prostat kanseri gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [38]. Bu çalışmalara ek olarak, meme kanseri olan bireylerden elde edilen meme epitel dokularında intronik snoRNA kodlanmasında rol oynayan GAS5 geninin ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, snoRNA'ların tümör baskılayıcı bir özelliğe sahip olabileceğini göstermektedir [39].

Bunların dışında, lncRNA sınıfında yer alan ve yüksek düzeyde korunmuş olan bölgeler (T-UCR)'in ifadesinin değişiminin de kolorektal kanser ve hepatoselüler karsinoma ile ilişkili olduğu bulunmuştur [40]. T-UCR ifadesinin kanser gelişimi ile olan ilişkisi iki temel mekanizmayla açıklanabilmektedir [22]. Bunlardan birincisi, kanser hücrelerinde değişen T-UCR düzenlemesinin T-UCR'nın miRNA'larla olan ilişkisini bozmasıdır. Bazı T-UCR'lerin miRNA hedefi oldukları ve özgül miRNA'lara komplementer oldukları belirlenmiştir. Lösemi hücrelerinde artan miR-155 ifadesi T-UCRuc.160+'nın ifadesinin azalmasına neden olmuştur. İkinci mekanizma ise, T-UCR'lerin promotor bölgelerinde yer alan CpG adacıklarının hipermetilasyonuna yol açmasıdır. Mekanizmanın nasıl işlediği henüz aydınlatılamamıştır. Ancak kolon,

meme ve akciğer kanserlerinde yapılan çalışmalarda, hücrenin yaşamasını ve mitoz bölünme sürecini etkileyen genler üzerinde hipermetilasyonun etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Aynı grup içerisinde yer alan lincRNA'ların kanser oluşumu ve gelişimi sürecindeki rolleri hakkında daha çok bilgi bulunmaktadır. lincRNA-p21'nin, p53 ilişkili transkripsiyonel cevapta rol oynadığı belirlenmiştir. p15'nin antisensisi olan p15AS lincRNA'sının ise insan lösemilerinde tümör baskılayıcı özelliğe sahip olan p15'nin ifadesini azalttığı gösterilmiştir.

ncRNA'ların sadece kanser oluşumu ve gelişiminde yer almadığı ve kardiyolojik, nörolojik, inflamatuvar hastalıklardan, işitme kaybı ve kromozom anomalilerine kadar geniş bir hastalık grubunda etkili oldukları belirlenmiştir. miRNA'ların %70'i beyinde ifade olmaktadır. Nöron gelişiminde ve nörit uzamasında rol almaktadırlar. Bu nedenle düzenlenmelerindeki bozukluklar nörolojik hastalıklara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, miRNA olgunlaşmasının engellenmesi, Purkinje hücrelerinde ataksiye, oligodendrositlerde multiple sklerozoa ve dopaminerjik hücrelerde ise Parkinson hastalığına yol açmıştır [41]. Alzheimer hastalığında miRNA'ların, β -amiloid peptidini üreten BACE1(β -secretase 1) enzim ifadesini azalttığı belirlenmiştir. miRNA ifade profillerindeki bozuklukların birçok monogenik hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, miR-145 ve miR146a delesyonlarının 5q sendromuna neden olduğu belirlenmiştir [42]. Bunun dışında, Prader-Willi sendromu (PWS) ve Angelman sendromuyla ilişkili snoRNA'lar da tanımlanmıştır [43]. Diğer birçok hastalıkla ilişkili olduğu bilinen ncRNA'lar Tablo II'de gösterilmiştir [22].

Tanı ve tedavi yaklaşımları

ncRNA'ların kompleks canlılarda birincil genetik düzenleyici olduklarını gösteren bulguların artışıyla beraber bu RNA'ların hastalıkların biyobelirteci (*Biomarker*) olarak kullanılabilmesi fikri ortaya atılmıştır. miRNA'ların ifade profillerinin değişimi çeşitli tümörlerde ve karsinomalarda ayırıcı tanı olarak kullanılmaktadır [55]. Ayrıca 200 adet miRNA'nın kanserlerin sınıflandırılmasında kullanılabilmesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Erken teşhisin zor olduğu kolon kanseri ve diğer kanser türlerinde ise, hastanın serum, plazma, tükürük ve doku örneklerinden çıkarılacak miRNA profillerinin erken teşhiste kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir [56]. Kolon, akciğer ve meme kanserinin tanısında, bu hastalıklarla sıkı ilişkili ncRNA'lar tanının konmasına yardımcı olacak araçlar olarak kullanılabilir [57]. Bunların yanı sıra sadece kanserlerin tanısında değil tek gen hastalıkların tanısında da ncRNA'lar biyobelirteç olarak kullanılabilir [27]. Birçok tek gen hastalığında belirli miRNA'lar ile hastalığın kesin ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Örneğin, 5q sendromunda miR-145 and miR-146a delesyonlarının fenotipi etkilediği bulunmuştur [42]. Crohn Hastalığı [48] ve işitme kayıplarında [50]

Tablo II. ncRNA'ların İlgili Olduğu Hastalıklar

Hastalık Adı	İlgili ncRNA	ncRNA Tipi	Referans
Kolon ve gastrik kanseri	miR-124a	miRNA	22
Kolon ve meme kanseri, melanom	miR-148a	miRNA	22
Mesane kanseri	miR-205	miRNA	22
Kolon, meme ve akciğer kanseri	miR-141	miRNA	22
Nöroektodermal beyin tümörleri	miR-517c ve miR-520g	miRNA	22
Meme kanseri	U50	snoRNA	22
Kolon, meme ve akciğer kanseri	Uc.160+	T-UCR	22
Spinal Motor Nöron Hastalığı	miR-9	miRNA	44
Kardiak Hipertrofi	miR-21	miRNA	45
Rett Sendromu	miR-146a, miR-146b, miR-29 ve miR-382	miRNA	46
5q Sendromu	miR-145 ve miR-146a	miRNA	42
ICF Sendromu	miR-34b, miR-34c, miR-99b, let-7e ve miR-125a	miRNA	47
Crohn Hastalığı	miR-196	miRNA	48
Prader-Willi ve Angelman Sendromları	snoRNA, 15q11-q13 lokusunda	snoRNA	43
Beckwith-Wiedeman Sendromu	lncRNAs H19 ve KCNQ1OT1	lncRNA	49
Uniparental disomi 14	snoRNA, 14q32.2 lokusunda	snoRNA	49
Silver-Russell Sendromu	lncRNA H19	lncRNA	49
İşitme kaybı	miR-96	miRNA	50
Alzheimer Hastalığı	miR-29, miR-146 ve miR-107	miRNA	51
Alzheimer Hastalığı	ncRNA -BACE1 transkriptinin antisense'i	lncRNA	52
Parkinson Hastalığı	miR-7, miR-184 ve let-7	miRNA	41
Down Sendromu	mir-155 ve miR-802	miRNA	53
Romatoid Artrit	miR-146a	miRNA	54

BACE1: β -sekretaz 1, ICF sendromu: İmmün yetmezlik, sentromik bölge instabilitesi ve yüz bölgesi anomalileri sendromu, lncRNA: Uzun kodlamayan RNA, miRNA: Mikro RNA, ncRNA: Kodlamayan RNA, snoRNA: Küçük nükleoar RNA.

da hastalığın gelişim sürecinde rol oynayan miRNA'lar tanımlanmıştır. Mutasyon analizleri haricinde ilgili miRNA'ların kullanımıyla hastalıkların erken teşhisinin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

ncRNA'lar ile hastalıklar arasındaki ilişki ve basit hayvanlarda RNAi-temelli teknolojiler sayesinde gelişen gen susturumu çalışmaları, RNA moleküllerini tedavi ajanları olarak kullanma fikrini ortaya çıkarmıştır [58]. RNA-temelli ve RNA-hedefli tedavilerdeki ilk çalışmalar in-vitro insan hücre hatlarında yapılmıştır [59]. siRNA kullanılarak AIDS'den sorumlu virus HIV-1 ve kanserde kilit rol oynayan BCL2 hedefleri kapatılmıştır [60]. Gen tedavilerinde olduğu gibi, RNA kullanılarak yapılan tedavilerde çeşitli zorluklarla karşılaşmaktadır. Bunlar; dozaj ayarlanması, hedef dokuya ulaşım ve hedef dışı susturmalarıdır [61].

İnsan kanserleri için miRNA aktivitesini taklit eden ve düzenleyen RNA tedavileri uygulanmaktadır [62]. miRNA'ların onkogen olarak işlev gördüğü hastalıklarda, miRNA *antisense* oligonükleotitleri (ASO) kullanılarak miRNA fonksiyonu baskılanmaktadır. ASO'lar miRNA hedeflerine baz dizilimi olarak tam uygunluk göstermektedir. ASO'lar, etkilerine ve dayanıklılıklarına göre, nükleik asit kilitleyicileri (LNA), anti-miRNA oligonükleotitleri (AMO) ve antagomirler olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır [63]. Fare memeli tümör modelinde, miR-10b hedefi antagomirler intravenöz olarak fareye enjekte edilmiş ve sonuçta farede erken metastaz önlenmiştir [64]. Başka bir çalışmada ise

kolesterol ve lipit metabolizmasında görevli miR-122'yi hedefleyen LNA'lar ile kardiyovasküler hastalıklarda tedavi amaçlanmış ve miR-122'nin baskılanması ile plazmadaki kolesterol seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir [65].

Tümör baskılayıcı özelliklere sahip miRNA'ların ifadesinin azalmasını yol açtığı hastalıklarda ise miRNA'ların işlevinin artırılması hedeflenen diğer bir tedavi yöntemidir. 'miRNA yedekleme tedavisi' olarak adlandırılan yöntemde hepatoselüler karsinomalarda, miR-26a ifadesi artırılmıştır. Adenoviral vektörler kullanılarak miRNA'lar fareye gönderilmiş ve hücre bölünmesi durdurularak, hücrelerde apoptozun tetiklendiği tespit edilmiştir [66]. miRNA ifadesinin azaldığı insan tümörlerinde ise miRNAome adı verilen miRNA grubunun ifadesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. miRNA ifadesini arttırmak için DNA demetilleme ajanları ve histon deasetilaz inhibitörleri kullanılarak tümör baskılayıcı olarak işlev gören ncRNA'lar üzerindeki epigenetik susturumun kaldırılması planlanmaktadır. Bu sayede ifadesi artan miRNA'ların tümöral gelişimi durdurduğu ve programlı hücre ölümünü tetiklediği gözlenmiştir [67].

miRNA'lar için uygulanan yaklaşımların benzeri diğer ncRNA'lar için de uygulanabilmektedir. Ancak örneğin lncRNA'ların inhibisyonu miRNA'lar kadar kolay olmamaktadır. Bunun nedeni lncRNA'ların ikincil yapılarının daha karmaşık olmasıdır. Buna rağmen siRNA'lar kullanılarak lincRNA'ların kapatılması başarılı olmuştur [68].

Sonuç

ncRNA'ların hastalıklarla ilişkisinin tam olarak anlaşılabilmesi için ncRNA'ların hastalıklardaki patolojik etki mekanizmalarını aydınlatmak gerekmektedir. Bu konuda karşılaşılan en önemli zorluk genomik ve epigenomik açıdan ve biyoinformatik yaklaşımla RNA'ların işlevlerini araştırmaktır. İkinci nesil DNA dizileme yöntemlerine dayanan RNA dizilemesi ile insanın bütün ncRNA transkriptom bilgisine sahip olunabilecektir. Ancak bu noktada verilerin değerlendirilmesi için biyoinformatik programları önemli olacaktır. Bunun nedeni, ncRNA'ların fonksiyonlarını etkileyen karmaşık sekonder bir yapı kazanmalarındır. Dolayısıyla sadece dizi bilgisi yeterli olmayacaktır. Bu yaklaşıma sahip programlar (RNAfold, RNAalifold, EvoFold, QRNA ve CMFinder) geliştirilmeye başlanmıştır [22]. Diğer karşılaşılan zorluklar ise ncRNA'ların fonksiyonel motiflerinin ve domainlerinin işlevinin tam olarak anlaşılabilmesi ve ncRNA'ların düşük ifade seviyelerine sahip olmalarıdır.

ncRNA'ların hastalıklarla ilişkilerinin anlaşılabilmesi için fare modellerinde çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan fare modeline en iyi örnek, miR-21 geninin onkogen olarak tanımlandığı çalışmadır. Benzer olarak yapılan çalışmalarla da miRNA-372 ve miRNA-373 gibi başka onkogenlerde tanımlanmıştır [69]. Gelişen klonlama teknikleri ve aday ncRNA'ların fazla ifade olduğu veya ifadesinin kapatıldığı hücre ve hayvan modelleri sayesinde daha fazla bilgi elde edilebilecektir.

Yakın zamanda, RNA'ların birbirleriyle etkileşime geçtiğini gösteren şaşırtıcı bir mekanizma keşfedilmiştir. miRNA'ların hedeflerine bağlanmalarını düzenleyen endojen rekabetçi RNA'lar (ceRNA) tanımlanmış [70], miRNA'lar ve ceRNA'lar arasında kurulan bu ağ ceRNA ağları (ceRNET) olarak ifade edilmiştir. ceRNA'lar, miRNA'ların düzenleyicileri olarak görev yapabileceğinden dolayı ceRNA'ların miRNA ile ilişkili hastalıklarda önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle ceRNA'ların fonksiyonunun araştırılmasıyla hastalıkların gelişim süreci daha net anlaşılabilir ve yeni tedavi yöntemleri geliştirilebilecektir.

Birçok ilaç firması kanser, kardiyovasküler, nörolojik ve kas hastalıklarına karşı ncRNA-temelli stratejiler geliştirerek yakın gelecekte tedavilerin klinikte kullanımlarını sağlamaya çalışmaktadır. Diğer ncRNA'ları ve hastalıkları hedefleyen yöntemlerin geliştirilmesiyle hastalıklara farklı tedavi yaklaşımları da geliştirilebilecektir.

Kaynaklar

1. Taft RJ, Pheasant M, Mattick JS. The relationship between non-protein-coding DNA and eukaryotic complexity. *Bioessays* 2007; 29:288–99. doi:10.1002/bies.20544
2. Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447:799–816. doi:10.1038/nature05874
3. Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science* 2005; 309:1559–63.
4. Mattick JS. A new paradigm for developmental biology. *J Exp Biol* 2007; 210:1526–47. doi:10.1242/jeb.005017
5. Kapranov P. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007; 316: 1484–8. doi:10.1126/science.1138341
6. Mette MF, Aufsatz W, van der Winden J, Matzke MA, Matzke AJ. Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA. *EMBO J* 2000; 19:5194–201. doi:10.1093/emboj/19.19.5194
7. Kanduri C, Whitehead J, Mohammad F. The long and the short of it: RNA-directed chromatin asymmetry in mammalian X-chromosome inactivation. *FEBS Lett* 2009; 583:857–64. doi:10.1016/j.febslet.2009.02.004
8. Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell* 2009; 136:669–87. doi:10.1016/j.cell.2009.01.046
9. Erson AE, Petty EM. MicroRNAs and in development and disease. *Clin Genet* 2008; 74:296–306. doi:10.1111/j.1399-0004.2008.01076.x
10. Wang G, Reinke V. A C. elegans Piwi, PRG-1, Regulates 21U-RNAs during Spermatogenesis. *Curr Biol* 2008; 18:861–7. doi:10.1016/j.cub.2008.05.009
11. Aravin AA, Sachidanandam R, Bourc'his D, et al. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice. *Mol Cell* 2008; 6:785–99. doi:10.1016/j.molcel.2008.09.003
12. Malone C, Hannon G. Small RNAs as guardians of the genome. *Cell* 2009; 136:656–68. doi:10.1016/j.cell.2009.01.045
13. Bachellerie JP, Cavaille J, Huttenhofer A. The expanding snoRNA world. *Biochimie* 2002; 84: 775–90. doi:10.1016/S0300-9084(02)01402-5
14. Simpson L, Sbicego S, Aphasizhev R. Uridine insertion/deletion RNA editing in trypanosome mitochondria: a complex business. *RNA* 2003; 9:265–76. doi:10.1261/rna.2178403
15. Reiner R, Ben-Asouli Y, Krilovetzky I, Jarrous N. A role for the catalytic ribonucleoprotein RNase P in RNA polymerase III transcription. *Genes Dev* 2006; 12: 1621–35. doi:10.1101/gad.386706
16. Marrone A, Dokal I. Dyskeratosis congenita: molecular insights into telomerase function, ageing and cancer. *Expert Rev Mol Med* 2007; 6: 1–23. doi:10.1017/S1462399404008671
17. Scheffer GL, Wijngaard PLJ, Flens MJ, et al. The drug resistance-related protein Lrp is the human major vault protein. *Nat Med* 1995; 1: 578–82. doi:10.1038/nm0695-578
18. Lerner MR, Boyle JA, Hardin JA, Steitz JA. Two novel classes of small ribonucleoproteins detected by antibodies associated with lupus erythematosus. *Science* 1981; 4480:400–2. doi:10.1126/science.6164096
19. Christov CP, Trivier E, Krude T. Noncoding human Y RNAs are overexpressed in tumours and required for cell proliferation. *Br J Cancer* 2008; 5: 981–8. doi:10.1038/sj.bjc.6604254
20. Taft RJ, Simons C, Nahkuri S, et al. Nuclear-localized tiny RNAs are associated with transcription initiation and splice sites in metazoans. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17:1030–4. doi:10.1038/nsmb.1841
21. Dieci G, Fiorino G, Castelnuovo M, Teichmann M, Pagano A. The expanding RNA polymerase III transcriptome. *Trends in Genet* 2007; 23: 614–22. doi:10.1016/j.tig.2007.09.001
22. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011; 18:12:861–74. doi:10.1038/nrg3074
23. He L, Hannon G J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5:522–31. doi:10.1038/nrg1379
24. Aravin A A, Sachidanandam R, Girard A, Fejes-Toth K, Hannon G J. Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control. *Science* 2007; 316: 744–7. doi:10.1126/science.1142612
25. Taft R J. Tiny RNAs associated with transcription start sites in animals. *Nature Genet* 2009; 41:572–8. doi:10.1038/ng.312
26. Kiss-László Z, Henry Y, Bachellerie J P, Caizergues-Ferrer M, Kiss T. Site-specific ribose methylation of preribosomal RNA: a novel function for small nucleolar RNAs. *Cell* 1996; 85, 1077–88.

27. Mercer T R, Dinger M E, Mattick J S. Long non-coding RNAs insight into functions. *Nature Rev Genet* 2009; 10: 155–9. doi:10.1038/nrg2521
28. Visone R, Croce CM. MiRNAs and cancer. *Am J Pathol* 2009; 174:1131–8. doi:10.2353/ajpath.2009.080794
29. Pang J, Kwok W, Chen Z, Ng H. Oncogenic role of microRNAs in brain tumors. *Acta Neuropathol* 2009; 117:599–611. doi:10.1007/s00401-009-0525-0
30. Kocerha J, Kauppinen S, Wahlestedt C. MicroRNAs in CNS disorders. *Neuromol Med* 2009; 11:162–72. doi:10.1007/s12017-009-8066-1
31. Barringhaus K, Zamore P. MicroRNAs: regulating a change of heart. *Circulation* 2009; 119:2217–24. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.715839
32. Davalos V, Moutinho C, Villanueva A, et al. Dynamic epigenetic regulation of the microRNA 200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis. *Oncogene* 2012; 19:2062–74.
33. Calin G, Dumitru C D, Shimizu M, 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. doi: 10.1073/pnas.242606799
34. Sun G, Wang Y, Sun L, et al. Clinical significance of Hiwi gene expression in gliomas. *Brain Res* 2011; 1373: 183–8. doi:10.1016/j.brainres.2010.11.097
35. Liu X, Sun Y, Guo J, et al. Expression of hiwi gene in human gastric cancer was associated with proliferation of cancer cells. *Int J Cancer* 2006; 118: 1922–9. doi:10.1002/ijc.21575
36. Lee T I, Jenner R G, Boyer L A, Guenther M G, Levine S S. Control of developmental regulators by polycomb in human embryonic stem cells. *Cell* 2006; 125: 301–13. doi:10.1016/j.cell.2006.02.043
37. Liao J, Yu L, Mei Y, Guarnera M, Shen J. Small nucleolar RNA signatures as biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 198. doi:10.1186/1476-4598-9-198
38. Dong XY, Guo P, Boyd J, Sun X, Li Q. Implication of snoRNA U50 in human breast cancer. *J Genet Genomics* 2009;36,: 447-54.doi:10.1016/S1673-8527(08)60134-4
39. Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL, Farzaneh F, Williams GT. Growth arrest in human T-cells is controlled by the non-coding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5). *J Cell Sci* 2008; 121: 939-46. doi:10.1242/jcs.024646
40. Calin GA, Liu CG, Ferracin M, et al. Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell* 2007; 12: 215–29. doi:10.1016/j.ccr.2007.07.027
41. Gehrke S, Imai Y, Sokol N, Lu B. Pathogenic LRRK2 negatively regulates microRNA-mediated translational repression. *Nature* 2010; 466: 637–41. doi:10.1038/nature09191
42. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med* 2010; 16: 49–58.
43. Horsthemke B, Wagstaff J. Mechanisms of imprinting of the Prader-Willi/Angelman region. *Am J Med Genet A* 2008; 146 A: 2041–52. doi:10.1002/ajmg.a.32364
44. Haramati S, Chapnik E, Sztainberg Y, et al. miRNA malfunction causes spinal motor neuron disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 13111–6. doi:10.1073/pnas.1006151107
45. Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature* 2008; 456: 980–4. doi:10.1038/nature07511
46. Urdinguio RG, Fernandez AF, Lopez-Nieva P, et al. Disrupted microRNA expression caused by Mecp2 loss in a mouse model of Rett syndrome. *Epigenetics* 2010; 5: 656-63. doi:10.4161/epi.5.7.13055
47. Gatto S, Della Ragione F, Cimmino A, Strazzullo M, Fabbri M. Epigenetic alteration of microRNAs in DNMT3B-mutated patients of ICF syndrome. *Epigenetics* 2010; 5: 427–43. doi:10.4161/epi.5.5.11999
48. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, et al. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet* 2011; 43: 242–5. doi:10.1038/ng.762
49. Eggermann T. Silver-Russell and Beckwith–Wiedemann syndromes: opposite (epi)mutations in 11p15 result in opposite clinical pictures. *Horm Res* 2009; 71: (Suppl. 2): 30–5. doi:10.1159/000192433
50. Lewis MA, Quint E, Glazier AM, et al. An ENU-induced mutation of miR-96 associated with progressive hearing loss in mice. *Nat Genet* 2009; 41: 614–8. doi:10.1038/ng.369
51. Hébert S S, Horré K, Nicolai L, Papadopoulou A S, Mandemakers W. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/β-secretase expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 6415–20.
52. Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nat Med* 2008; 14: 723–30. doi:10.1038/nm1784
53. Kuhn D E, Nuovo G J, Terry A V Jr, Martin M M, Malana G E. Chromosome 21-derived microRNAs provide an etiological basis for aberrant protein expression in human Down syndrome brains. *J Biol Chem* 2010; 285: 1529–43. doi:10.1074/jbc.M109.033407
54. Pauley K M, Cha S. miRNA-146a in rheumatoid arthritis: a new therapeutic strategy. *Immunotherapy* 2011; 3:829–31. doi:10.2217/imt.11.70
55. Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435:834–8. doi:10.1038/nature03702
56. Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9:703–11. doi:10.1517/14712590902932889
57. Swanton C, Caldas C. Molecular classification of solid tumours: towards pathway-driven therapeutics. *Br J Cancer* 2009; 100: 1517–22. doi:10.1038/sj.bjc.6605031
58. Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol* 2010; 220:126-39.
59. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411:494–8. doi:10.1038/35078107
60. Lee NS, Dohjima T, Bauer G, et al. Expression of small interfering RNAs targeted against HIV-1 rev transcripts in human cells. *Nat Biotechnol* 2002; 20:500–5.
61. Whitehead K, Langer R, Anderson DG. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8:129–38. doi:10.1038/nrd2742
62. Wang Y, Wu W. MicroRNA-based therapeutics for cancer. *Bio Drugs* 2009; 23:15–23. doi:10.2165/00063030-200923010-00002
63. Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438:685–9.
64. Ma L, Reinhardt F, Pan E, et al. Therapeutic silencing of miR10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 341–7. doi:10.1038/nbt.1618
65. Elmen J, Lindow M, Schutz S. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 2008; 452: 896–9.
66. Ma L, Young J, Prabhala H, et al. miR-9, a MYC/MYCIN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 247–56. doi:10.1038/ncb2024
67. Saito Y, Liang G, Egger G, et al. Specific activation of microRNA127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell* 2006; 9:435–43. doi:10.1016/j.ccr.2006.04.020
68. Tsai M C, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as a modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329: 689–93. doi:10.1126/science.1192002
69. Medina P P, Nolde M, Slack F J. OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma. *Nature* 2010; 467: 86–90. doi:10.1038/nature09284
70. Ebert MS, Neilson JR, Sharp PA. MicroRNA sponges: competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells. *Nat Methods* 2007; 4:721-6. doi:10.1038/nmeth1079