

Derleme / Review

RNA Dünyasından Kliniğe: Madde Kullanım Bozuklukları için RNA Terapötikleri
From the RNA World to the Clinic: RNA Therapeutics for Substance Use Disorders

Süheyla Ayfer Alkaç, Selda Mercan

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Özet: RNA terapötikleri, hastalıkları tedavi etmeyi veya önlemeyi amaçlayan ve hızla genişleyen bir ilaç kategorisidir. Madde bağımlılığının mekanizması tam olarak aydınlatılmadığından, önlenmesi ve tedavisinde halen büyük zorluklar yaşanmaktadır. Bağımlılık yapan maddelerin uzun süreli alımının gen ekspresyon profilini modüle ettiği, ödül mekanizması ve hafıza ile ilgili beyin bölgelerinde patolojik nöroadaptasyona yol açtığı bilinmektedir. Kodlamayan RNA'ların, kompulsif madde kullanımını yönlendiren uyumsuz nöroadaptasyonları düzenlediği gösterilmiş olsa da madde kullanım bozukluğu üzerindeki etkisi henüz klinik olarak test edilmemiştir. Bu gözden geçirme çalışması, madde kullanım bozukluğunun tedavisine yönelik potansiyel bir yaklaşım olan, kodlamayan RNA bazlı terapötiklere odaklanmayı amaçlamaktadır. Bu perspektifte, madde kullanım bozukluğunda yer alan kodlamayan RNA süreçleri gözden geçirilmiştir. Kodlamayan RNA'ları hedeflemeye yönelik son terapötik yaklaşımlar tartışılarak, madde kullanım bozukluğu için kodlamayan RNA'yı hedefleyen terapötiklerin potansiyel fırsatları ve zorlukları vurgulanmıştır. Sonuç olarak, RNA modülasyonunun çeşitli hastalıkların tedavisindeki etki mekanizmalarının umut verici bir strateji haline gelmesi, kodlamayan RNA'ların madde kullanım bozukluğunun tedavisinde de uygulanabilir terapötik hedefler olarak keşfedilmesi gerektiği kanaati oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Madde kullanım bozukluğu, RNA, Kodlamayan RNA, RNA terapötikleri

Abstract: RNA therapeutics are a rapidly expanding category of drugs that aim to treat or prevent diseases. Since the mechanism of substance addiction is not fully elucidated, there are still great difficulties in its prevention and treatment. It is known that long-term intake of addictive substances modulates the gene expression profile and causes pathological neuroadaptation in brain regions related to reward mechanisms and memory. Although non-coding RNAs have been shown to regulate maladaptive neuroadaptations that drive compulsive substance use, their effect on substance use disorder has not yet been clinically tested. This study aims to focus on non-coding RNA-based therapeutics as a potential approach to the treatment of substance use disorder. In this perspective, non-coding RNA processes involved in substance use disorder are reviewed. Recent therapeutic approaches for targeting non-coding RNAs are discussed, highlighting the potential opportunities and challenges of noncoding RNA-targeting therapeutics for substance use disorder. In conclusion, the mechanisms of action of RNA modulation in the treatment of various diseases have become a promising strategy, leading to the conclusion that noncoding RNAs should be explored as applicable therapeutic targets in the treatment of substance use disorder.

Keywords: Substance use disorder, RNA, Noncoding RNA, RNA therapeutics

ORCID ID of the authors: SAA. [0000-0002-9093-854X](https://orcid.org/0000-0002-9093-854X), SM. [0000-0002-0431-6972](https://orcid.org/0000-0002-0431-6972)

Received 20.10.2023

Accepted 27.11.2023

Online published 20.12.2023

Correspondence- Selda MERCAN- İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
e-mail: mercans@iuc.edu.tr

1. Giriş

"RNA terapötikleri", bir bileşen olarak RNA'yı kullanan bir hastalık tedavisini veya ilacı ifade eder. Bu bağlamda RNA, küçük moleküllü bir ilacın doğrudan hedefi olabilir veya RNA'nın kendisi, bir proteine bağlanmak, başka bir RNA'yı taklit etmek veya hedeflemek üzere tasarlanmış bir ilaç olabilir. Son klinik başarılar ve çığır açan teknolojiler, molekülün ilaca benzer niteliklerinde veya ilaç hedefi olarak kullanışlılığında devrim yarattığından, RNA, ilaç geliştirme dünyasında dikkat çekmiştir (1).

Şu anda piyasada bulunan ilaçların çoğu ya küçük moleküller ya da proteinlerdir. Küçük molekül bazlı ilaçlar genellikle hedef proteinlerinin rekabetçi inhibitörleridir; protein bazlı ilaçlar ise genellikle hedef proteinlere bağlanmak, işlevsel olmayan hedef proteinleri değiştirmek veya yetersiz miktarda hedef proteini desteklemek için kullanılmaktadır. RNA tedavileri, bu bozuklukların patofizyolojik mekanizmalarını hedef alan daha iyi tedavi seçenekleri sunabilir ve bu da hastalar için daha iyi sonuçlara yol açabilir (2).

Geleneksel protein hedefli ve DNA bazlı ilaçlarla karşılaştırıldığında, RNA bazlı terapötikler, farklı fizyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinden dolayı umut vaat etmektedir. RNA'lar; DNA'lar, RNA'lar ve proteinler olmak üzere üç doğrudan değiştirebilir. RNA aptamerleri ayrıca küçük molekül inhibitörlerine ve antikorlara benzer şekilde protein aktivitesini de bloke edebilir. Bu nedenle, RNA bazlı tedaviler, ilaçlanabilir hedeflerin aralığını genişletebilir ve en çekici terapötik hedef olarak kabul edilirler. Sonuç olarak, araştırmacılar daha önce ilaçlanamayan mekanizmaları hedeflemek için nükleik asit bazlı tedavilere yönelmektedir (3).

Nükleik asit kimyası, biyoinformatik yaklaşımlar ve ilaç taşıma sistemlerindeki son gelişmeler, RNA-hedefli ilaçların stabilitesi, özgüllüğü ve tolere edilebilirliği ile ilgili birçok sorunu

temel biyolojik makromolekülde işlev görür. Antisens oligonükleotitler, küçük müdahaleci RNA'lar (Small interfering RNA, siRNA) ve mikroRNA'lar (MicroRNA, miRNA) gibi RNA molekülleri, Watson-Crick baz eşleşmesi yoluyla mRNA'ları ve kodlamayan RNA (non-coding RNA, ncRNA)'ları doğrudan hedefleyebilir. Bu nedenle RNA, hedef RNA üzerinde doğru nükleotit dizisini seçerek teorik olarak ilgili herhangi bir geni hedefleyebilir. Buna karşılık, insan genomunun çoğu DNA dizisinin kodlamayan transkriptlere kopyalanması nedeniyle, insan genomunun yalnızca %0,05'i şu anda onaylanmış protein hedefli terapötikler (küçük moleküllü kimyasallar ve antikorlar) tarafından ilaçlanmıştır. Bununla birlikte, proteinlerin yaklaşık %85'inde küçük moleküllerin bağlanması için cep ve yarık gibi özel yapılar yoktur. Ayrıca in vitro transkribe edilen mRNA, sitoplazmaya girdikten sonra protein replasman tedavisi veya immünizasyon için uygulanabilir. Bu süreç, geri dönüşü olmayan genom değişikliklerine neden olmayacak ve DNA bazlı tedaviler gibi genetik risklere neden olmayacaktır. Dahası, kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, CRISPR), belirli bozuklukları tedavi etmek için hedef RNA dizilerini

önemli ölçüde iyileştirmiştir. Bu gelişmeler, başarılı klinik çalışmalar ve çeşitli bozukluklar için ABD Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency, EMA) tarafından nükleik asit bazlı terapötiklerin onaylanmasıyla sonuçlanmıştır (4).

Nükleik asit ilaçlarının, hedef molekülün lokalizasyonuna veya yapısına bakılmaksızın tasarlanabilmesi ve küçük moleküller veya antikorlarla ulaşılması mümkün olmayan hedef moleküllere yönelik yaklaşımları mümkün kılması; bununla birlikte hedef genin nükleotid dizisini değiştirerek kolayca ilaç

oluşturmanın mümkün olması, nükleik asit bazlı terapötiklere yönelik ilginin giderek artmasına ve gelişmesine katkıda bulunmaktadır (5). İlk tedavilerin birçoğu protein kodlayan transkriptleri modüle etmeyi amaçlasa da, son zamanlarda hem sağlıkta hem de hastalıkta hücre tipine özgü biyolojik süreçlerdeki önemli rolleri göz önüne alındığında, ncRNA'ları hedef alan nükleik asit bazlı ilaçların geliştirilmesine ilgi artmaktadır (4).

Madde kötüye kullanımı ve madde kullanım bozuklukları her yıl milyonlarca insanı doğrudan etkilemekte; yaşam kalitesinin düşmesine, sağlığın bozulmasına ve ölüme neden olmaktadır. Bununla birlikte, madde kötüye kullanımı topluma büyük ekonomik ve kamu güvenliği sorunları getirmektedir (6). Kompulsif madde kullanımını yönlendiren altta yatan mekanizmaların çoğu açıklanmış olmasına rağmen, madde kullanım bozukluğunu tedavi etmek için onaylanan farmakolojik ajanların sayısı sınırlıdır. Madde kullanım bozukluğu için mevcut farmakoterapiler büyük ölçüde nörotransmitter-reseptör aktivitesinin küçük molekül modülasyonundan oluşmaktadır. Bu tedaviler bazı klinik başarılar göstermiş olsa da, umut verici pek çok terapötik fırsatı kaçırmamak adına, konuyu daha geniş bir perspektiften ele almak gerekir. Bu nedenle, alanı ileriye taşımak ve tedaviyi iyileştirmek için madde kullanım bozukluğuna yönelik yeni farmakolojik müdahalelere büyük ölçüde ihtiyaç duyulmaktadır (4). Madde kullanım bozukluğunun hayvan modellerinde, birkaç ncRNA'nın madde arama davranışlarında işlevsel rol oynadığı gösterilmiştir (7,8). İnsanlarda madde kullanım bozukluğu ile bağlantılı birçok genetik varyant, genomun kodlamayan bölgelerinde bulunur. Bu nedenle, madde kullanım bozukluğundaki varsayılan ncRNA hedeflerinin sayısı artmaya devam ettikçe, bu yeni mekanizmaları modüle etmek için nükleik asit bazlı terapötiklere ihtiyaç duyulacağı düşünülmektedir (4). Bu perspektifte, madde kullanım bozukluğu için

ncRNA'ları yeni terapötik yaklaşımlar olarak geliştirmek üzere; bu araçların madde kullanım bozukluğu üzerindeki potansiyel etkilerinin irdelendiği ve tedavisinin geleceğine ilişkin değerlendirmelerin yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştı. Söz konusu ihtiyaçtan yola çıkılarak, bu çalışma, madde kullanım bozukluğunun tedavisi için ncRNA'yı hedefleyen umut verici son terapötik stratejilere bir bakış sunmayı amaçlamıştır. Yapılan literatür değerlendirmesi kapsamında, madde kullanım bozukluğunda yer alması olası farklı ncRNA sınıfları tanımlanmış, ncRNA'ları değerlendirmek için kullanılan yöntemlere genel bir bakış sağlanmış ve madde kullanım bozukluğu için ncRNA bazlı tedavi stratejileri ortaya koyulmuştur. Son olarak, ncRNA hedeflemenin devam eden zorlukları tartışılarak, madde kullanım bozukluğunda ncRNA bazlı terapötikler için geleceğe dönük perspektifler sunulmuştur.

2. Madde Kullanım Bozukluğunda Kodlamayan RNA'lar

Madde kullanım bozukluğu dünya çapında bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (4). Birleşmiş Milletler Uyuşturucu ve Suç Ofisi (UNODC) Dünya Uyuşturucu Raporu'nda (2023), son 10 yılda madde kullanımının yüzde 23 arttığı; 2021 yılında dünya genelinde 15-64 yaş aralığındaki her 17 kişiden birinin madde kullandığı ifade edilmiştir (9).

Madde bağımlılığının mekanizması tam olarak aydınlatılmadığından, önlenmesi ve tedavisinde büyük zorluklar yaşanmaktadır (5). Bağımlılık, zararlı sonuçlarına rağmen kompulsif madde arama ve kullanma ile karakterize edilen kronik, tekrarlayan bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır (10). Madde kullanımında ilk karar çoğu insan için isteğe bağlıdır, ancak tekrarlanan madde kullanımı beyinde, bağımlı kişinin öz kontrolünü zorlayan ve yoğun madde

alma dürtüsüne direnmesini engelleyen değişikliklere yol açabilmektedir. Bu değişiklikler kalıcı olabileceğinden madde bağımlılığı "nükseden" bir hastalık olarak kabul edilmektedir (11). Kronik madde kullanımı, uzun süreli yoksunluk dönemlerinden sonra bile maddenin nüksmesine zemin hazırlayan çeşitli uyumsuz nöroadaptasyonlarla sonuçlanmaktadır (12).

Bağımlılık yapan maddelerin uzun süreli alımının gen ekspresyon profilini modüle ettiği, beyin ödül mekanizması ve hafıza ile ilgili bölgelerinde patolojik nöroadaptasyona yol açtığı bilinmektedir. ncRNA'ların, uyuşturucu bağımlılığında yer alan genlerin anormal ifadesinde önemli roller oynadığı gösterilmiştir (13). ncRNA'lar, insanlarda birçoğunun hücre tipine özgü bir şekilde transkribe edildiği merkezi sinir sisteminde bol miktarda eksprese edilir (4). ncRNA'ların, hücre döngüsünün düzenlenmesi, farklılaşma, sinyal iletimi, apoptoz, sinaptik plastisite ve DNA hasarına yanıt verme de dahil olmak üzere tüm süreçlerde gen ekspresyonunun inhibisyonunu veya aktivasyonunu modüle ederek birçok hücresel sürecin belirlenmesinde farklı roller oynadığı giderek daha belirgin hale gelmektedir (14,15).

Madde kullanım bozukluğu dahil nöropsikiyatrik bozukluklarda, beyindeki ncRNA ekspresyonundaki değişiklikler hastalık patofizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir ve birçok ncRNA, merkezi sinir sistemi hastalık modellerinde fonksiyonel olarak incelenmiştir (4). Madde kullanım bozukluğu üzerine yapılan araştırmaların çoğu miRNA'lar, uzun kodlamayan RNA'lar (long non-coding RNA, lncRNA) ve daha yakın zamanda da sirküler RNA (circular RNA, circRNA)'lar olmak üzere 3 sınıf ncRNA'ya odaklanmıştır. Bu bölümde miRNA'ların, lncRNA'ların ve circRNA'ların mekanik rolleri kısaca gözden geçirilmektedir ve madde kullanım bozukluğundaki potansiyel terapötik ncRNA hedefleri vurgulanmaktadır.

2.1. MikroRNA

Yakın geçmişe kadar işlevsel olmadığı düşünülen genom bileşenlerinin, yaklaşık 30 yıl önce gen düzenleme kapasitesine sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (16). miRNA'lar, ilk kez 1993 yılında keşfedilmiştir (17) ve keşfedilmelerinden bu yana miRNA'ların kodlamayan genomun önemli bir parçası olduğu gösterilmiştir. miRNA'lar, neredeyse tüm biyolojik süreçlerde transkripsiyon sonrası modülasyonun anahtar negatif düzenleyicileri olarak işlev gören, 15-22 nükleotitlik kısa, tek sarmallı, ncRNA molekülleridir. Günümüzde miRNA'ların ekspresyonundaki düzensizliklerin sıklıkla insan hastalıklarının patogeneziyle ilişkili olduğu gösterilmekte ve bu da onları çekici terapötik hedefler haline getirmektedir (16). Protein kodlayan genlerin %20-50'sini modüle etme yeteneğine sahip olan miRNA'lar, birçok hücresel aktivitenin ana düzenleyicileri olarak kabul edilir. Özellikle miRNA'lar beyin gelişiminde ve nöroplastisitede önemli role sahiptir ve miRNA'ların ekspresyon düzensizliği çoğu nöropsikiyatrik bozukluğun patofizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir (4).

Madde kullanım bozukluğunun klinik öncesi ve klinik çalışmalarında, kokain, amfetamin, metamfetamin, nikotin, opioid ve alkol kullanımının ardından beyin ödül sistemi ile ilişkili bölgelerinde birçok miRNA disregüledir (18-23). Madde kullanım bozukluğu ile ilişkili miRNA'ları araştıran çalışmalarda yasadışı madde kullanımıyla ilişkili miRNA'lardan bazılarının, uyumsuz nöroplastisite ve madde arama davranışlarında önemli rol oynadığı bilinen madde kullanım bozukluğu hedeflerinin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (24). Örneğin, sıçanlara iki hafta boyunca düzenli olarak kokain enjekte edilmesinin ardından dorsal striatumda miR-124 ve let-7'nin ekspresyon düzeyinde azalış; nükleus akübens (Nucleus accumbens, NAc), prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinde ise miR-181a'nın

ekspresyon düzeyinde artış meydana geldiği gösterilmiştir. Kokain kullanımı sonrası ifade düzeyleri değişen bu miRNA'ların hedef aldığı genlerin BDNF, CREB, AMPA-2 ve mGluR5 olduğu gösterilmiştir (25). Özellikle miR-212, miR-132, miR-181, miR-9 ve let-7 miRNA'lar, insan ve hayvan örneklerinde kötüye kullanılan birçok madde için gözlemlenmiş değişen ekspresyonları nedeniyle, klinik hedefleme açısından ilgi çekici bulunmuştur (24). Madde kullanım bozukluğunun beyindeki miRNA ekspresyon değişiklikleri üzerine yapılan araştırmalara ek olarak, hastaların kan örneklerindeki miRNA ekspresyon düzeyleri, madde geçmişi ve nüksetme ile de ilişkilendirilmiştir (26,27). Bu nedenle hem beyindeki hem dolaşımdaki miRNA'ların bağımlılık durumları için tanı ve tedavide biyolojik belirteçler olarak görev alabileceği öngörülmektedir (28).

Madde kullanım bozukluğu olan hastalarda miRNA terapötik hedeflerini kullanan herhangi bir klinik çalışma bulunmamakla birlikte, klinik öncesi madde kullanım bozukluğu modellerinde birkaç miRNA işlevsel olarak araştırılmıştır (4). Örneğin, sıçanlarda dorso lateral striatumda miR-124a'nın ve onun doğrudan hedefi olan beyin kaynaklı nörotrofik faktörünün (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) alkolün neden olduğu koşullu yer tercihinin (conditioned place preference, CPP) ve alkol alımındaki rolünü lentiviral vektör kullanarak araştıran bir çalışmada, miR-124a'nın viral aracılı artan ekspresyonu, alkolün neden olduğu CPP'yi ve alkol alımını artırırken; miR-124a'nın lentiviral vektör aracılı ekspresyon susturucunun, CPP'yi ve alkol tüketimini azalttığı ortaya konmuştur (29).

Kokain CPP deneylerinde, NAc'de miR-124 ve let-7d'nin lentiviral vektör aracılı ekspresyonu, kokain CPP'sini azaltırken; miR-181a'nın lentiviral vektör aracılı ekspresyonu CPP'yi arttırmıştır (30). Tersine NAc'de miR-124 ve let-7'nin susturulmasının kokainin neden olduğu

CPP'yi artırırken; miR-181a'nın susturulması kokainin neden olduğu CPP'yi azaltır (31). Opioid kendi kendine uygulama (self-administration) deneylerinde, dentat girusta miR-132'nin aşırı ekspresyonu morfin arama davranışlarını arttırırken, farklı bir çalışmada miR-9'un NAc'de aşırı ekspresyonu oksikodon alımını arttırmıştır ve infüzyonlar arası aralığı azaltmıştır (32,33). Genel olarak, bu sonuçlar miRNA'ların madde kullanım bozukluğunda önemli terapötik hedefler olduğunu göstermektedir (4).

2.2. Uzun Kodlamayan RNA

LncRNA'lar, genel olarak 200 nükleotid uzunluğundan daha uzun olan ve genellikle genomik konumlarına veya işlevlerine (intronik, intergenik, antisens, arttırıcı vb.) göre sınıflandırılan çeşitli RNA molekülleri sınıfıdır (34). LncRNA'ların proteinlere, mRNA'lara, miRNA'lara ve/veya DNA'lara bağlanarak hemen hemen her hücrel süreci düzenleyebildikleri gösterilmiş ve böylece gen ekspresyonunun regülasyonunda, gelişim ve farklılaşma gibi hücrel süreçlerde kritik işlevlerinin olduğu bildirilmiştir. LncRNA'ların gen ekspresyonunu, epigenetik, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel seviye dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla regüle edebildikleri gösterilmiştir (35). LncRNA'lar, genomik DNA ile etkileşime girerek promotör bölgeleri gibi spesifik genomik bölgelere proteinleri yönlendirebilir veya proteinlerin spesifik DNA bölgelerine bağlanmasını engelleyerek transkripsiyonel seviyede gen ekspresyonunu düzenleyebilmektedir. Ayrıca, lncRNA'lar, mRNA'ları küçük ncRNA'lara keserek, çift sarmallı RNA'lar oluşturmak üzere mRNA'larla etkileşime girerek, pre-mRNA'ların alternatif uçbirleştirmesini (splincig) değiştirerek veya diğer ncRNA türleri ile etkileşime girerek post-transkripsiyonel seviyede hedef genleri düzenlemektedir. lncRNA'lar ayrıca; DNA metilasyonu,

histon modifikasyonu, genomik damgalama ve kromatin yeniden modellemesi veya diğer ncRNA'lar ile (özellikle miRNA'lar ile) etkileşime girerek epigenomu şekillendirerek hedef genleri epigenetik seviyede düzenlemektedir (36).

Memeli sinir sisteminde birçok lncRNA oldukça zengindir. Bu nedenle, lncRNA'lar beyin gelişimi ve nöroplastisite sırasında karmaşık uzay-zamansal gen ekspresyon mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır. Sonuç olarak değişen lncRNA ekspresyonu madde kullanım bozukluğu da dahil olmak üzere çeşitli beyin hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir (4).

Madde kullanım bozukluğunda lncRNA'ların rolünü inceleyen ilk çalışmalardan biri, eroin ve kokain kullanıcısı bireyin postmortem NAc'sindeki lncRNA ekspresyonunun analiz edilmesi olmuştur. Madde kullanmayan sağlıklı kontrollere kıyasla, eroin kullanıcılarının NAc'sinde *MIAT*, *NEAT1*, *MALAT1* ve *MEG3* lncRNA'larının ekspresyon düzeylerinin arttığı; kokain kullanıcılarının NAc'sinde *MIAT*, *MALAT1*, *MEG3* ve *EMX2OS* lncRNA'larının ekspresyon düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Bu iyi çalışılmış lncRNA'lar, GABA nöron nörojenezini, sinaps oluşumu ve cAMP sinyalleme dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlemlere katkıda bulunmaktadır. Kemirgen çalışmalarında, metamfetaminle tedavi edilen farelerin NAc'sindeki lncRNA'ların transkripsiyonel profili, çoğunlukla metamfetamin tarafından aşağı yönde regüle edilen, ekspresyonu değişen binlerce lncRNA'yı ortaya koymuştur (37). Daha ileri biyoinformatik analizler, bu lncRNA'ların birçoğunun, ödül ve bağımlılık yollarında yer alan protein kodlayan genlerin potansiyel cis- veya trans-regülatörleri olarak hareket ettiğini ortaya çıkarmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda *H19*, *Mirg*, *BC1*, *Lrap* ve *Gas5* lncRNA'ları da madde kullanım bozukluklarına dahil edilmiştir (4). Her ne kadar madde kullanım bozukluğu ile

ilişkili lncRNA deneylerinin çoğu korelasyonel verilerle sınırlı olsa da, Xu ve ark. yakın zamanda madde kullanım bozukluğu modellerinde lncRNA *Gas5*'in işlevsel bir rolünü ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmalarda, kokaine maruz kalınması (intraperitoneal enjeksiyonlar ve kendi kendine uygulama), NAc'de *Gas5* ekspresyonunu azaltmıştır ve davranış deneylerinde, NAc nöronlarında *Gas5*'in viral aracılı aşırı ekspresyonu kokainin neden olduğu CPP'yi azaltarak kokain alımının azalmasına yol açmıştır (38). Transkriptomik seviyede, *Gas5* tarafından düzenlenen gen ekspresyon modelleri, kokaine maruz kalma nedeniyle değiştirilen genlerle önemli ölçüde örtüşmüştür; bu, *Gas5*'in kokainin neden olduğu transkripsiyonel tepkileri düzenlediğinin bir göstergesidir (4).

Doğal antisens transkriptleri (Natural antisense transcript, NAT), madde kullanım bozukluğunda da yer alan bir lncRNA sınıfıdır (7), kodlayan genin zıt (antisens) zincirinden kopyalanmakta ve kodlayan genin gövdesi, promotör veya güçlendirici bölgesi ile kısmen veya tamamen örtüşmektedir. Maddeye bağlı nöroplastisitede yer alan birçok gen, NAT'ler içerir ve *Bdnf-AS*, *Homer1-AS*, *Traf3ip2-AS1* ve *Prkcq-AS1* gibi çoklu NAT'lerin ekspresyonu, kötüye kullanılan maddeler tarafından değiştirilir. Bu nedenle NAT inhibisyonu, madde kullanım bozukluğu ile ilişkili protein kodlayan genlerin ekspresyonunu arttırmak için özellikle yararlı bir yaklaşım olabilmektedir. Araştırmacılar, antisens oligonükleotidler aracılığıyla infralimbik kortekste *Bdnf-AS*'nin susturulmasının, nikotinin kendi kendine uygulamasını azalttığını ve diğer deneylerde, *Bdnf-AS*'nin siRNA aracılı susturmanın ketamin kaynaklı nörotoksisiteyi azalttığını bulmuşlardır. Bu nedenle, özgüllükleri ve madde arama davranışlarında ortaya çıkan rolleri sayesinde lncRNA'lar, madde kullanım bozukluğu için umut verici terapötik hedeflerdir (4).

2.3. Sirküler RNA

LncRNA'lar arasında yer alan bir RNA sınıfı olan circRNA'lar, bir başka genetik düzenleyici olarak işlev gören ve ncRNA türüdür. (39). CircRNA'lar, 3'- ve 5'- uçları kovalent olarak birleşerek dairesel yapı oluşturan 200 nükleotitten büyük ncRNA'lardır. CircRNA'lar, RNazR aktivitesine dirençli olan kovalent bağlarla kapalı sürekli bir döngü oluşturduğundan, doğrusal RNA'lara göre daha stabildir ve bu nedenle çeşitli hastalık durumlarında uzun vadeli etkilere de aracılık edebilmektedir (40). Birçok circRNA, hücre tipine, dokuya ve gelişim aşamasına özgü olup (41), transkripsiyonel aktivasyona, transkripsiyon sonrası düzenlemelere, translasyona ve protein etkileşimlerine katkıda bulunmaktadır (42). CircRNA dizisinde çok sayıda miRNA bağlanma bölgesinin tanımlanması, circRNA'ların, miRNA süngeri adı verilen miRNA bağlayıcı moleküller olarak işlev gördüğünü göstermektedir (43). Bu şekilde circRNA'ların, mRNA'ya bağlanmak için miRNA'larla rekabet içine girerek miRNA'ları ayırdığı ve endojen aktivitelerini baskıladığı bilinmektedir (44). CircRNA ekspresyonu, özellikle memeli beyinde diğer dokulara göre daha yoğun şekilde gerçekleşerek circRNA'ları nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisi için çekici bir hedef haline getirmektedir (45). Son yıllarda, circRNA'ların madde kullanım bozukluğundaki rolünü araştıran araştırmacılar, post-mortem alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin NAc dokusunda bağımlılıkla ilişkili birkaç circRNA-miRNA etkileşimleri tanımlamışlardır (46). Kemirgen çalışmalarında doğum öncesi alkol maruziyetinin fetal beyindeki circRNA'ların ekspresyonunu cinsiyete özgü bir şekilde değiştirdiği gösterilmiştir (47). CircRNA'ların ekspresyonu aynı zamanda opioidler tarafından da düzensizleştirilmekte, özellikle miR-541-5p ve miR-6934-3p'nin bir süngeri olan CircTmeff-1'in fare Nac'de morfinin

neden olduğu CPP için işlevsel olarak önemli olduğu gözlemlenmiştir (48). Bununla birlikte, yakın zamanda kokainin neden olduğu CPP kullanılarak, NAc'de circTmeff-1 ifadesinin, kokainle ilişkili hafızanın yeniden konsolidasyonunu düzenlediği ortaya çıkarılmıştır (49). Diğer psikostimulan çalışmalarında, kokain kendi kendine uygulaması ile farelerin striatal bölgesinde 90 circRNA'nın farklı şekilde eksprese edildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, kokain kullanım bozukluğu olan bireylerin post-mortem dorsolateral prefrontal korteksinde 41 farklı şekilde eksprese edilen circRNA'lar ortaya çıkarılmıştır (50,51). Metamfetaminin neden olduğu nörotoksisite modellerinde, metamfetamin tedavisinden sonra kortikal nöronlardaki circRNA profili araştırılmış ve çok sayıda circRNA tanımlanmıştır. Metamfetamin maruziyetinden kaynaklanan nöronal hasarı modüle eden circHomer1 adlı yeni bir circRNA ortaya çıkarılmış ve circHomer1'in susturulmasının metamfetamin maruziyetinin neden olduğu toksisiteyi hafiflettiği tespit edilmiştir (52,53). Gerçekleştirilen tüm bu çalışmalar, maddeye bağlı nöroadaptasyonlarda circRNA'ların önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir (4).

3. Kodlama Yapmayan RNA'yı Hedefleyen İlaçların Kategorileri

RNA'lar, hastalığın oluşumu ve ilerlemesindeki önemli süreçlerde yer almaktadır ve güçlü terapötik hedefler ve tanısal biyobelirteçler olarak ortaya çıkmıştır. RNA tedavisinin, hastalığa neden olan genleri diziyeye özgü bir şekilde hedef aldığı ve yaşamı tehdit eden çeşitli hastalıklar için daha kesin ve kişiselleştirilmiş tedaviler sağladığı için en iyi tedavi stratejilerinden biri olduğu düşünülmektedir. Hedef dokuya özgü bir nükleik asit sekansının eklenmesiyle gen ekspresyonu aşağı yönde (down-regulation) düzenlenebilmekte,

artırılabilen veya düzeltilen hastalıklardır. Çeşitli hastalıkların siRNA veya ASO'larla gen modifikasyonları yoluyla tedavisini amaçlayan, özellikle de 2015'ten bugüne 14 RNA bazlı ilaç FDA veya EMA onayı almıştır (54). Literatürde, mevcut FDA onaylı bu RNA terapötiklerinin kapsamlı bir incelemesi sunulmaktadır (2).

Araştırmacılar, RNA'ları hedeflemek için nükleik asitleri kullanmanın yanı sıra, RNA ile etkileşime giren küçük moleküller (small molecules interacting with RNA, SMIRNA'lar) olarak adlandırılan, RNA transkriptlerini hedef alan küçük moleküller geliştirmişlerdir. RNA'ları hedeflemeye yönelik ilk stratejiler genleri kodlamaya odaklanırken, birçok klinik öncesi ve klinik çalışma artık ncRNA'ları hedeflemek için benzer yaklaşımlar kullanmaktadır (4). Bu bölümde, ncRNA'yı hedefleyen ilaçların önemli kategorileri kısaca gözden geçirilmektedir ve madde kullanım bozukluğu kapsamında her kategori için potansiyel tedavi edici potansiyelleri vurgulanmaktadır.

3.1. Antisens Oligonükleotidler

DNA'daki patojenik mutasyonlar, uçbirleştirme sürecini etkileyen hatalar oluşturabilmekte, bu da üretilen mRNA'yı etkilemektedir. Bu, gen ekspresyonu üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olabileceği gibi proteinin çok fazla veya çok az üretilmesine ve/veya hastalığa neden olabilecek işlevsiz proteinlere neden olabilmektedir. Hastalığa etki eden genlerin ekspresyonunu kontrol etmek için sentetik oligonükleotidlerin kullanılması üzerine düşünceler 40 yıldır devam etmektedir (55). Antisens oligonükleotidler (Antisense Oligonucleotide, ASO), sentetik olarak yapılmış oligonükleotid bazlı tedavilerin en yaygın türüdür ve genellikle 15-20 nükleotit uzunluğunda, tek zincirli ve spesifik hedef mRNA molekülüne komplementer olma özelliğine sahip RNA iplikleridir (56). ASO'lar, Watson-

Crick baz eşleşmesi (AT, CG etkileşimi) yoluyla bir hedef RNA'ya bağlanarak protein sentezi için genetik bilginin transferini spesifik olarak engellemek üzere tasarlanmıştır (57). ASO'ların mRNA'ya spesifik olarak bağlanmaları sonucu oluşan RNA-ASO heterodubleksi mRNA'nın uçbirleştirmesini, translasyonunu veya degradasyonunu değiştirerek, karşılık gelen proteine translasyonu önlemektedir. Oligonükleotid kimyasına bağlı olarak antisens aracılı gen inaktivasyonunun çeşitli mekanizmaları mevcuttur. En yaygın olanı, bağlanma sonucu oluşan dubleksin RNaz-H'i aktive ederek, mRNA'nın enzimatik olarak bölünmesine ve dolayısıyla translasyonun blokajına neden olması iken, bir diğeri ise ribozomal okuma sırasında sterik engellemeyle translasyonu durdurmasıdır (58). ASO'ların daha küçük boyutlu olmaları ve sıkı bağlanma özelliği, diğer nükleik asit ilaçlarına kıyasla merkezi sinir sistemi ile ilişkili hastalıklarda terapötik bir avantaj sağlamaktadır (4).

Büyük terapötik potansiyellerine rağmen tek sarmallı RNA oligonükleotidleri, ilaç gelişimini zorlaştıran bazı özelliklere sahiptir. Özellikle fosfat omurgası ve bazları olan riboz şekerden oluşan doğal oligonükleotidler, nükleazlar tarafından parçalanarak dolaşımdan hızlıca uzaklaştırılmaktadırlar.

Oligonükleotidlerin enzimatik bozunmaya karşı kararsızlığının yanı sıra, güvenli ve etkili dağıtımı, oligonükleotid terapötiklerinin klinik gelişimindeki en büyük zorluk olmaya devam etmektedir. Oligonükleotidler ağır ve negatif yüklü makromoleküller olduğundan, modifiye edilmemiş/çıplak formda uygulandıklarında emilim, dağılım ve terapötik aktivitelerini engelleyen birçok engel ortaya çıkmaktadır (59). Bu özellikleri geliştirmek için oligonükleotidlerin fosfodiester bağlarını, riboz omurgasını veya nükleobazları değiştirerek kimyasal olarak modifiye edilmesi gerekmektedir (56). Her ne kadar kimyasal olarak modifiye edilmiş ASO'ların her tipinin avantajları ve

dezavantajları olsa da genel olarak bu modifikasyonlar dağıtım sistemlerine olan ihtiyacı azaltırken; nükleazların sindirimine yönelik stabiliteyi, biyolojik yarı ömrü ve bağlanma afinitesini arttırmaktadır (4). Bununla birlikte, çoğu antisens oligonükleotidin ve diğer nükleik asitlerin kan-beyin bariyeri yoluyla hedef dokulara spesifik ve etkili bir şekilde iletilmesi zor olduğundan, merkezi sinir sistemini hedeflemek için tipik olarak intratekal veya intranazal uygulama gerekmektedir (59). Şu anda, başarılı in vitro ve in vivo araştırmaların ardından Angelman sendromu (NCT05127226) için klinik testlerden geçen en az bir ncRNA-hedefli ASO bulunmaktadır (60). Birkaç madde kullanım bozukluğu ile ilişkili lncRNA (*MALAT1*, *MIAT* ve *BDNF-AS*), diğer klinik öncesi hastalık modellerinde ASO'lar kullanılarak başarılı bir şekilde hedeflenmişse de (61,62) bunların veya diğer ncRNA hedefli ASO formülasyonlarının madde kullanım bozukluğu modellerinde etkili olup olmadığını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (4).

3.2. siRNA

siRNA'lar, 21- 25 nükleotid uzunluğunda ve gen ifadesini susturma işlevi gören çift sarmallı RNA'lar olup, hedef mRNA'larını aşağı yönde düzenlemede ASO'lar gibi tek sarmallı muadillerine göre daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Bu, çoğu insan hastalığının tedavisinde siRNA teknolojisinin ASO'lara kıyasla avantajını vurgulamaktadır (2). ASO'larda olduğu gibi, siRNA'larda da yapılan kimyasal modifikasyonlar siRNA'ların güvenliğini ve etkinliğini arttırmıştır ve şu anda 5 siRNA bazlı ilaç (Patisiran, Givosiran, Lumasiran, Inclisiran, Vutrisiran) FDA veya EMA onayı almıştır. Bununla birlikte, siRNA'lar, ASO'lara kıyasla nükleer RNA'ları hedeflemede etkili değildir; daha büyük boyutları ve negatif yükleri nedeniyle modifiye edilmemiş siRNA'lar, hücreye girmek için bir dağıtım ajanının kullanılmasını

gerektirmektedir. Araştırmacılar, bu sınırlama ile mücadele etmek için fosfodiesterleri, nötr yüklü fosfotriesterlerle değiştirerek siRNA'ların negatif yükünü gizleyen siRNA produg'ları (siRibonükleik nötr'ler, siRNN'ler) geliştirmişlerdir. Bu siRNA produg'ları lipid çift katmanını geçebilmekte ve hücreye girdikten sonra fosfotriester grubu, tiyoesterazlar tarafından bölünerek susturulmasına izin vermektedir (4).

FDA onaylı siRNA ilaçlarının çoğu karaciğeri hedef alırken, merkezi sinir sistemi ile ilişkili bozuklukları tedavi etmek için yeni siRNA formülasyonlarının kullanılmasına yönelik artan bir ilgi söz konusudur. Merkezi sinir sistemi kullanımları için siRNA bazlı ilaçların kullanılabilirliğini daha da destekleyen son klinik öncesi deneyler, intratekal uygulamayı takiben kemirgenlerin ve insan olmayan primatların beyinde güvenli, güçlü ve uzun süreli gen susturma sergileyen yeni, kimyasal olarak modifiye edilmiş siRNA'ları tanımlamıştır. Sistemik veya doğrudan beyin enjeksiyonları kullanılarak, madde kullanım bozukluğu, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, inme ve epilepsi'nin hayvan modellerinde ncRNA'ların siRNA hedeflemesi sağlanmıştır. Bu nedenle, son FDA onayları, çok sayıda devam eden son aşama klinik testler ve umut verici klinik öncesi verilerle, siRNA bazlı terapötiklerin geleceği umut verici görünmektedir, ancak merkezi sinir sistemi endikasyonları için siRNA formülasyonlarının daha fazla test edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (4).

3.3. MikroRNA Değiştirme/Bastırılması

miRNA hedeflemesi, RNA girişim yaklaşımları kullanılarak elde edilmiştir. Örneğin, miRNA mimikleri, endojen miRNA aktivitesini taklit eden ve hedef mRNA'ların 3'UTR bölgesine bağlanan modifiye edilmiş çift sarmallı RNA molekülleridir. Bu yaklaşım, translasyonel inhibisyon yoluyla hedef

mRNA'ların aşağı yönde regülasyonuna yol açmaktadır. Öte yandan miRNA aktivitesini azaltmak için antimiR'ler, miRNA süngerleri ve miRNA maskeleyen teknikleri kullanılmaktadır. Yapısal olarak ASO'lara benzeyen miRNA inhibitörleri veya antimiR'ler, hedef genlerle endojen miRNA etkileşimini önlemektedir. Bu tek sarmallı moleküller genellikle stabiliteyi, hücresel alımı ve in vivo iletimi geliştirmek için kilitli nükleik asit (locked nucleic acids, LNA), peptid nükleik asitleri veya kolesterol (antagomiR gibi) kullanılarak modifiye edilmektedir. Bir miRNA ailesini inhibe etmek için miRNA süngerleri, birden fazla miRNA'nın çekirdek dizilerini tanıyan çeşitli tamamlayıcı diziler içeren sentetik transkriptler de klinik öncesi çalışmalarda kullanılmıştır. Son olarak, miRNA maskeleyen adı verilen bir teknikte, ASO belirli bir mRNA üzerindeki 3'UTR bölgelerine bağlanmakta ve bunun komplementer bir miRNA ile etkileşimini önlemektedir (4). Klinik öncesi çalışmalarda araştırmacılar, intratekal veya doğrudan beyin enjeksiyonları yoluyla alkol, kokain ve opioid kullanım bozukluklarına sahip hayvan modellerinde antimiR'lerin etkinliğini göstermiştir. Diğer hastalık modellerinde, madde kullanım bozukluğu ile ilgili miRNA'lar (miR-34, miR-145, miR-212), miRNA mimikleri aracılığı ile hedeflenmiştir. miRNA bazlı terapötikler henüz madde kullanım bozukluğu hastalarında klinik olarak test edilmemiş olsa da, çeşitli miRNA mimik ve antimiR formülasyonları hayvanlarda veya diğer hastalıklar için klinik deneylerde test edilmektedir. miRNA hedefli madde kullanım bozukluğu terapötikleri alanını ileriye taşımak için araştırmacıların, nüksetmeyi ve madde arama davranışlarının edinilmesinden ziyade madde özlemini tetikleyen miRNA'ları tanımlamaları ve karmaşık madde kullanım bozukluğu modellerinde klinik olarak ilgili miRNA-hedefli formülasyonları test etmeleri teşvik edilmektedir (4).

3.4. RNA'larla Etkileşime Giren Küçük Moleküller

Alanda sürdürülen araştırmalar, iyi tanımlanmış tanıma bölgeleri ve motifleri oluşturan RNA'nın üç boyutlu yapısının, küçük moleküller tarafından seçici olarak hedef alınabileceğini göstermektedir (63). Spesifik RNA'lara (ncRNA'lar dahil) doğrudan bağlanmanın yanı sıra, SMIRNA'lar ayrıca RNA biyogenezine veya RNA-protein etkileşimlerine müdahale ederek RNA fonksiyonlarını dolaylı olarak etkileyebilmektedir. Nükleik asit bazlı tedavilerin aksine, birçok SMIRNA'nın molekül ağırlığı düşüktür (genellikle <1 kDa) ve oral yolla uygulanabilmektedir, bu da translasyonel uygulamalar için önemli faktörlerdendir. Bununla birlikte, RNA, spesifik olmayan bağlanma ve yan etkilerden kaçınmak için onu diğer RNA'lardan ayıran, önemli yapısal karmaşıklığa sahip benzersiz bir tanıma bölgesi içermelidir. Ayrıca, RNA'nın bolluğu SMIRNA'ların etkinliğini etkileyerek çok düşük düzeyde eksprese edilen lncRNA'ları hedeflerken potansiyel bir sorun oluşturabilmektedir. Burada belirtilen zorluklara rağmen, klinik öncesi çalışmalarda birçok SMIRNA tanımlanarak doğrulanmıştır ve 2020 yılında Risdiplam adlı ilaç (oral yoldan alınabilen, antibiyotik olmayan bir SMIRNA), spinal müsküler atrofi tedavisi için FDA onayı almıştır. ncRNA'lar ayrıca SMIRNA'larla başarıyla hedeflenmiştir. Yapılan iki çalışma, eroin ve kokain kullanıcılarının beyinde ve morfinle tedavi edilen ratlarda değiştirilmiş bir lncRNA olan MALAT1 için SMIRNA'ları tanımlamıştır. Diğer çalışmalarda, sınıfında ilk klinik aşamadaki kinolon bileşiği olan ABX464'ün, madde kullanım bozukluğu modellerinde iyi çalışılmış bir hedef olan miR-124'ün ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. Bu molekül, faz I doz güvenlik denemesinden ve faz IIa klinik çalışmalarından geçmiş olup; ABX464 esas olarak HIV ve ülseratif kolit hastalığında çalışılmış olmasına rağmen,

maddeye bağlı nörodavranışsal adaptasyonları azaltmak için beyindeki miR-124 ekspresyonunu yukarı yönde regüle etmek için de kullanılabilir. NP-C86, kokain arama davranışlarıyla ilişkilendirilen bir lncRNA olan lncRNA *Gas5*'i stabilize eden başka bir SMIRNA'dır. Son olarak, madde kullanım bozukluğu ile bilinen bir bağlantısı olan miRNA'lar olan *let-7* ailesi, LIN28 adı verilen RNA bağlayıcı proteinler tarafından bastırılmaktadır. Son zamanlarda Wang ve ark. LIN28'in altı küçük molekül engelleyicisini ve ardından *let-7* baskılanmasını başarıyla tanımlamış olmakla birlikte bu çalışmalar, ncRNA'ları SMIRNA'larla hedeflemenin uygulanabilir bir yaklaşım olduğunu ve madde kullanım bozukluğunda potansiyel bir faydaya sahip olabileceğini göstermektedir (4).

4. Kodlama Yapmayan RNA Terapötikleri için Dağıtım Sistemleri

Birçok ilerlemeye rağmen, merkezi sinir sistemi hastalıklarının nükleik asit bazlı ilaçlarla tedavisi, kan-beyin bariyeri nedeniyle büyük bir zorluk olmaya devam etmektedir. Beynin kılcal endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılardan oluşan kan-beyin bariyeri, büyük moleküllü terapötiklerin beyin parankimine girmesini engellediğinden, araştırmacılar, bu sorunu çözmek için intravenöz, intratekal veya intranazal uygulama yollarıyla beyne girebilen çeşitli RNA dağıtım sistemleri geliştirmiştir. Viral vektörler ve nanopartikül taşıyıcı sistemler, ncRNA terapötiklerinin beyne iletilmesi için en umut verici stratejilerden bazılarıdır (4).

4.1. Viral Vektörler

Klinik öncesi çalışmalarda, nükleik asitlerin beyin hücrelerine yüksek verimlilikle aktarılmasında viral vektörler yaygın olarak kullanılmaktadır (64). Nükleik asitleri taşımak için en yaygın olarak kullanılan viral vektörler,

adenovirüs, adeno-ilişkili virüs (adeno-associated virus, AAV) ve lentivirüs vektörleridir (65). Sinirbilim araştırmalarında, farklı serotipler farklı beyin hücrelerinin ve projeksiyona özgü yolların transdüksiyonuna izin verdiği için AAV'ler özellikle popülerdir. Viral vektörlerin bir diğer avantajı, hücre tipine özgü destekleyicileri kullanarak hastalıkla ilişkili beyin hücrelerini hedefleme yeteneğidir. Bununla birlikte, ncRNA'ları manipüle etmek için viral vektörleri kullanan madde kullanım bozukluğu ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğu, bunu doğrudan beyin enjeksiyonları yoluyla yapmıştır; ancak bu klinik kullanımı sınırlı olabilecek bir yaklaşımdır (4). Son zamanlarda araştırmacılar, beyni daha uygun uygulama yollarıyla hedef alabilen viral vektörler geliştirmiştir. Örneğin, yapay bir miRNA'yı eksprese eden bir AAV'nin intratekal enjeksiyonu, insan olmayan primatlarda hiçbir yan etki gözlemlenmeyen güçlü gen susturması ile sonuçlanmıştır (66). Birçok çalışma, intratekal veya intravenöz uygulama yolları yoluyla ncRNA'ların viral aracılı merkezi sinir sistemi dağıtımını araştırmıştır (67,68). Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Batten hastalığı ve Canavan hastalığı hastalarında AAV'nin kullanıldığı çok sayıda klinik çalışma yürütülmüştür veya devam etmektedir (69). Sonuç olarak, patojenik olmayan viral vektörler, ncRNA hedefli beyin iletimi için güçlü bir seçenek sunmaktadır ve madde kullanım bozukluğu olan hastalarda daha fazla takip edilmesi gerekmektedir (4).

4.2. Nanopartiküller

ncRNA terapötiklerinin nanopartikül aracılı dağıtımını, madde kullanım bozukluğu tedavisi için umut verici bir yaklaşımdır (4). Nanopartiküller, ayarlanabilir salım hızı, biyoyumluluk, sınırlı toksisite, beyne nüfuz etme yetenekleri ve hücre tipine özel dağıtım için ayarlanabilir yüzey modifikasyonları dahil olmak üzere birçok özelliğe sahiptir (70). Polimerik, inorganik, eksozom ve lipid bazlı nanopartiküller dahil olmak

üzere birçok farklı nanotaşıyıcı sınıfı, merkezi sinir sistemi hastalık modellerinde başarılı sonuçlar ortaya konmuştur (71-73). Birden fazla hastalık durumundaki güvenlik ve etkinliğinin bir göstergesi olarak, Pfizer-BioNTech ve Moderna COVID-19 aşılarının (her ikisi de mRNA iletimi için lipid nanopartiküllerini kullanır) ve siRNA ilacı Patisiran'ın son onayları da dahil olmak üzere çeşitli nanopartikül formülasyonları FDA onayı almıştır (4). Sistemik uygulama yoluyla nanopartikül aracılı beyin iletimi devam eden bir zorluk olsa da, miRNA mimik ve antimiR kapsüllü nanopartiküller, sistemik uygulamayı takiben birçok merkezi sinir sistemi hastalığı modelinde beyni başarıyla hedeflemiştir (74). Örneğin, miR-124 yüklü hücre dışı keseciklerin kokainle tedavi edilen farelere burun içinden verilmesi, beyine alımın başarılı olarak gerçekleştirilmesiyle ve inflamatuvar belirteçlerin ortadan kaldırılmasıyla sonuçlanmıştır (75). Nükleik asitlerin beyne iletilmesine yönelik daha yeni bir strateji, kan-beyin bariyeri boyunca taşınmayı kolaylaştıran nanopartiküllere yüzey modifikasyonları eklemektir (76). Araştırmacılar, beyindeki GLUT-1 adı verilen önemli bir glikoz taşıyıcısına bağlanan şeker kaplı polimerik nanopartiküller kullanarak, intravenöz uygulamayı takiben beyindeki kodlayan ve kodlamayan transkriptleri başarıyla hedeflemiştir (77). Diğer çalışmalarda, yüzeye transferrin bağlayıcı ligand eklenmiş eksozomlar, intravenöz enjeksiyondan sonra antimiR'leri sıçan beynine etkili bir şekilde iletmıştır. Nükleik asit yüklerinin beyne sistemik olarak iletilmesi, kuduz virüsü glikoprotein (Rabies virus glycoprotein, RVG) eksozomları ve lipozomları, transferrin hedefli siklodekstrinler, anjiyopep-2 hedefli lipid ve polimer bazlı nanopartiküller ve kalsiyum fosfat lipid nanopartikülleri kullanılarak da gerçekleştirilmiştir (78,79). Bu nedenle, beyine nükleik asitleri iletebilen nanoformülasyonların sayısının artmaya devam etmesiyle, ncRNA nanotaşıyıcı sistemlerin, madde kullanım bozukluğu modellerinde yapılacak daha fazla

araştırmayı ortaya çıkaracağı düşünülmektedir (4).

5. Tartışma ve Sonuç

Ortadan kaldırılmasına yönelik yoğun çabalara rağmen, hem yasal hem de yasa dışı uyuşturucu ve uyarıcı madde bağımlılığı dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Kullanılan psikoaktif maddeler kan-beyin bariyerini geçerek beyin kimyasal dengesini geçici ve/veya kalıcı olarak değiştirebilmektedir. Kan-beyin bariyeri, kanı beyin dokusundan ayıran bir bariyerdir ve ksenobiyotiklerin beyne dağıtımını büyük bir zorluk haline getiren özelliklere sahiptir. Bu sorunun çözümü için kan-beyin bariyerini aşabilecek ve ilaçların etkinliğini artırabilecek stratejilerin geliştirilmesi önemli rol oynamaktadır. Biyolojik ilaçlardaki son gelişmeler sayesinde genetik bozukluklardan HIV enfeksiyonuna ve çeşitli kanserlere kadar bir dizi hastalık için günümüzde çok sayıda RNA bazlı terapötik, klinik olarak araştırılmaktadır. Madde kullanım bozukluğu için ncRNA terapötik gelişiminin bugüne kadar katettiği yol dikkate alındığında, alanı ileriye taşımak için çeşitli konuların ele alınması gerektiği ortaya çıkmaktadır. İlk olarak, gelecekte klinik öncesi ve klinik deneylere ilave olarak karmaşık veya çoklu madde kullanım bozukluğu modelleri geliştirilerek ncRNA'ları hedefleyen fonksiyonel çalışmaların yapılması, en yüksek translasyon potansiyeline sahip ncRNA hedeflerini belirlemek için gerekli olacaktır. Çalışmalardan elde edilen sınırlı veriler bazı ncRNA'ların yetersiz yorumlanmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, madde kullanım bozukluğu ile ilişkili ncRNA'ların terapötik olarak takip edilmeden önce kapsamlı bir şekilde tanımlanması ve gerçek ncRNA'lar olarak doğrulanması gerekmektedir. Bu bağlamda, terapötik gelişimi kolaylaştırmak amacıyla, ncRNA hedeflerini tahmin etmek, karakterizasyona ve güvenliğe yardımcı olmak için çok sayıda biyoinformatik araç oluşturulmuştur. Farklı hücre türleri,

madde kullanım bozukluğu bağlamında zıt etkiler gösterebilmektedir. Dolayısıyla en umut verici ncRNA hedeflerini belirlemek üzere hücre tipine özgü çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alandaki en büyük boşluklardan biri de RNA terapötiklerinin yalnızca ilgili organ ve hücreye değil, aynı zamanda hücre içi fonksiyonlarını gerçekleştirmek üzere hücre zarı boyunca iletilmesine dair araştırmalardır. Klinik öncesi deneysel modellerde RNA bazlı terapötiklerin doğrudan beyne enjekte edilmesi yerine, araştırmacıların ncRNA tedavileri için klinik olarak ilgili uygulama yollarını test etmeleri teşvik edilmektedir. Ortaya koyulan çok sayıda çalışmada, kan-beyin bariyerinden kolayca geçişi sağlayan intranasal uygulamanın gelecekte önem arz edeceği vurgulanmaktadır. Gerçekleştirilen klinik öncesi ve klinik çalışmalarda, modifiye edilmiş ASO'ların, siRNA'ların ve nanopartikül içeren nükleik asitlerin intratekal enjeksiyon uygulamalarının yüksek verimle beyin taşınımı sağladığı dikkat çekmektedir. Bu durumda, elde edilen bu sonuçların madde kullanım bozukluğu deneylerinde de kullanılması yerinde bir yaklaşım olacaktır.

Madde kullanım bozukluğu ile ilgisi olabilecek klinik aşamadaki nükleik asit bazlı terapötiklerin yeniden kullanılması veya test edilmesi, bu alanı ileriye taşımak için gelecekte yapılabilecek bir başka stratejidir. Örneğin, birçok şirket madde kullanım bozukluğuna bağlı miRNA'ları hedef alan miRNA mimikleri veya anti-miR'yi geliştirmiştir. Bununla birlikte, "RNA-targeted Bioactive ligand Database (R-BIND) ve infoRNA" adlı SMIRNA veritabanlarının, madde kullanım bozukluğu ile ilgili ncRNA'ları hedef alan bileşiklerini tanımlamak için

kullanılabileceği önerilmektedir. Dolayısıyla, küçük moleküllerin tipik olarak nükleik asitlere kıyasla daha iyi bir fizikokimyasal profile sahip olması, önerilen bu görüşün ilgi çekici bir transkripsiyon yaklaşımı olduğunu göstermektedir. Bu veritabanlarının aynı zamanda klinik olarak test edilmiş küçük moleküllerden oluştuğu ve hızlı transkripsiyon uygulamaları için ilacın yeniden kullanılmasına olanak sağladığı bilinmektedir.

ncRNA'yı hedefleyen terapötiklerde ele alınması gereken bir diğer önemli konu dozajdır, çünkü birçok ncRNA çalışması öngörülemez yan etkilere yol açabilecek suprafizyolojik konsantrasyonlar kullanmıştır. Örneğin, yüksek dozda miRNA mimikleri, RNA kaynaklı susturum kompleksini (RNA induced silencing complex, RISC) doyurarak hedef dışı etkilere neden olabilmekte, potansiyel olarak ilgisiz miRNA'ların aktivitesini bloke ederek bir dizi yan etkiyi tetikleyebilmektedir. Klinik çalışmalarda bir ön koşul olarak, gelecekte gerçekleştirilecek deneylerin farklı koşullarda, ncRNA terapötiklerinin doza bağlı hedef içi ve hedef dışı etkilerini ortaya koyması gerekmektedir. Kuşkusuz benzer stratejiler, madde kullanım bozukluğu çalışmalarında etkinlik ve güvenlik açısından da araştırılması gereken hususlardır. Son olarak, RNA bazlı terapötiklerin yüksek fiyatı, özellikle bu pahalı ilaçları satın almak için yeterli maddi imkana sahip olmayan madde kullanım bozukluğu olan hastalar için ele alınması gereken bir diğer konudur. Bu endişeleri gidermeye yönelik devam eden çabalar, madde kullanım bozukluğunda ncRNA tedavilerinin kapsamını aralayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Hastings ML, Krainer AR. RNA therapeutics. *RNA*. 2023;29:393-5.
2. Zogg H, Singh R, Ro S. Current advances in RNA therapeutics for human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23:2736.
3. Zhu Y, Zhu L, Wang X, Jin H. RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. *Cell death & disease*, 2022;13:644.
4. Seyednejad SA, Sartor GC. Noncoding RNA therapeutics for substance use disorder. *Advances in drug and alcohol research*, 2022;2:10807.

5. Yamada Y. Nucleic acid drugs—current status, issues, and expectations for exosomes. *Cancers*, 2021;13(19):5002.
6. Zhao Y, Qin F, Han S, Li S, Zhao Y, Wang H, Tian J, Cen X. MicroRNAs in drug addiction: Current status and future perspectives. *Pharmacology & Therapeutics*, 2022;236:108215.
7. Sartor GC, St. Laurent III G, Wahlestedt C. The emerging role of non-coding RNAs in drug addiction. *Frontiers in genetics*, 2012;3:106.
8. Quinn RK, James MH, Hawkins GE, Brown AL, Heathcote A, Smith DW, ... & Dayas, CV. Temporally specific miRNA expression patterns in the dorsal and ventral striatum of addiction-prone rats. *Addiction biology*, 2018;23(2):631-642.
9. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). World Drug Report 2023. ISBN: 9789210028233, Available from: https://www.unodc.org/res/WDR-2023/WDR23_Exsum_fin_SP.pdf. [cited 2023 Sep 19].
10. Hu Y, Salmeron BJ, Krasnova IN, Gu H, Lu H, Bonci A, Cadet JL, Stein EA, Yang Y. Compulsive drug use is associated with imbalance of orbitofrontal-and prefrontal-striatal circuits in punishment-resistant individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019;116(18): 9066-9071.
11. Understanding Drug Use and Addiction DrugFacts. Available from: <https://nida.nih.gov/publications/drugfacts/understanding-drug-use-addiction> [cited 2023 Sep 19].
12. Sampedro-Piquero P, Santín L, Castilla-Ortega E. Aberrant brain neuroplasticity and function in drug addiction: a focus on learning-related brain regions. *Behavioral Neuroscience*, 2019;1-24.
13. Gowen AM, Odegaard KE, Hernandez J, Chand S, Koul S, Pendyala G, Yelamanchili SV. Role of microRNAs in the pathophysiology of addiction. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 2021;12(3):e1637.
14. Sharma V, Misteli T. Non-coding RNAs in DNA damage and repair. *FEBS letters*, 2013;587(13):1832-1839.
15. Xuan C, Yang E, Zhao S, Xu J, Li P, Zhang Y, Jiang Z, Ding X. Regulation of LncRNAs and microRNAs in neuronal development and disease. *PeerJ*, 2023;11:e15197.
16. Sridharan K, Gogtay NJ. Therapeutic nucleic acids: current clinical status. *British journal of clinical pharmacology*, 2016;82(3):659-672.
17. Bhaskaran M, Mohan M. MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease. *Veterinary pathology*, 2014;51(4):759-774.
18. Sessa F, Maglietta F, Bertozzi G, Salerno M, Di Mizio G, Messina G, Montana A, Ricci P, Pomara C. Human brain injury and miRNAs: an experimental study. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019;20(7): 1546.
19. Cuesta S, Restrepo-Lozano JM, Popescu C, He S, Reynolds LM, Israel S, Hernandez G, Rais R, Slucher BS, Flores, C. DCC-related developmental effects of abused-versus therapeutic-like amphetamine doses in adolescence. *Addiction biology*, 2020;25(4):e12791.
20. Chand S, Gowen A, Savine M, Moore D, Clark A, Huynh W, Wu N, Odegaard K, Weyrich L, Bevins RA, Fox HS, Pendyala G, Yelamanchili, SV. A comprehensive study to delineate the role of an extracellular vesicle-associated microRNA-29a in chronic methamphetamine use disorder. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2021;10(14):e12177.
21. Lee S, Woo J, Kim YS, Im HI. Integrated miRNA-mRNA analysis in the habenula nuclei of mice intravenously self-administering nicotine. *Scientific reports*, 2015;5(1):12909.
22. Shi X, Li Y, Yan P, Shi Y, Lai J. Weighted gene co-expression network analysis to explore the mechanism of heroin addiction in human nucleus accumbens. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2020;121(2):1870-1879.
23. Asimes A, Kim CK, Rao YS, Bartelt K, Pak TR. microRNA expression profiles in the ventral hippocampus during pubertal development and the impact of peri-pubertal binge alcohol exposure. *Non-coding RNA*, 2019;5(1):21.
24. Gowen AM, Odegaard KE, Hernandez J, Chand S, Koul S, Pendyala G, Yelamanchili SV. Role of microRNAs in the pathophysiology of addiction. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 2021;12(3):e1637.
25. Chandrasekar V, Dreyer JL. microRNAs miR-124, let-7d and miR-181a regulate cocaine-induced plasticity. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2009;42(4):350-362.
26. Xu W, Zhao M, Lin Z, Liu H, Ma H, Hong Q, Gui D, Feng J, Zhou W. Increased expression of plasma hsa-miR-181a in male patients with heroin addiction use disorder. *Journal of clinical laboratory analysis*, 2020;34(11):e23486.
27. Viola TW, Heberle BA, Zaparte A, Sanvicente-Vieira B, Wainer LM, Fries GR, Grassi-Oliveira R. Peripheral blood microRNA levels in females with cocaine use disorder. *Journal of psychiatric research*, 2019;114:48-54.
28. Gu WJ, Zhang C, Zhong Y, Luo J, Zhang CY, Zhang C, Wang C. Altered serum microRNA expression profile in subjects with heroin and methamphetamine use disorder. *Biomedicine&Pharmacotherapy*, 2020;125:109918.
29. Bahi A, Dreyer JL. Striatal modulation of BDNF expression using micro RNA 124a-

- expressing lentiviral vectors impairs ethanol-induced conditioned-place preference and voluntary alcohol consumption. *European Journal of Neuroscience*, 2013;38:2328-2337.
30. Chandrasekar V, Dreyer JL. Regulation of MiR-124, Let-7d, and MiR-181a in the accumbens affects the expression, extinction, and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36:1149-64.
 31. Hollander JA, Im HI, Amelio AL, Kocerha J, Bali P, Lu Q, Willoughby D, Wahlestedt C, Conkright MD, Kenny PJ. Striatal microRNA controls cocaine intake through CREB signalling. *Nature*. 2010;466:197-202.
 32. Jia M, Wang X, Zhang H, Ye C, Ma H, Yang M, Li Y, Cui C. MicroRNA-132 in the adult dentate gyrus is involved in opioid addiction via modifying the differentiation of neural stem cells. *Neuroscience bulletin*. 2019;35:486-96.
 33. Mavrikaki M, Anastasiadou E, Ozdemir RA, Potter D, Helmholtz C, Slack FJ, Chartoff EH. Overexpression of miR-9 in the nucleus accumbens increases oxycodone self-administration. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2019;22:383-93.
 34. Jung Y. "Coding" Is Not Enough: The Role of Long "Noncoding" RNA for Cocaine Addiction. *Biological Psychiatry*, 2020;88:e45-e47.
 35. Li Z, Zhao W, Wang M, & Zhou X. The role of long noncoding RNAs in gene expression regulation. *Gene Expression Profiling in Cancer*, 2019;1-17.
 36. Zhou Z, Lin Z, Pang X, Tariq MA, Ao X, Li P, & Wang J. Epigenetic regulation of long non-coding RNAs in gastric cancer. *Oncotarget*, 2018;9:19443.
 37. Zhu L, Zhu J, Liu Y, Chen Y, Li Y, Huang L, Chen S, Li T, Dang Y, Chen, T. Methamphetamine induces alterations in the long non-coding RNAs expression profile in the nucleus accumbens of the mouse. *BMC neuroscience*, 2015;16:1-13.
 38. Xu H, Brown AN, Waddell NJ, Liu X, Kaplan GJ, Chitaman JM., Stockman V, Hedinger RL, Adams R, Abreu K, Shen L, Neve R, Wang Z, Nestler EJ, Feng J. Role of long noncoding RNA Gas5 in cocaine action. *Biological psychiatry*, 2020;88:758-766.
 39. Xu S, Zhou L, Ponnusamy M, Zhang L, Dong Y, Zhang Y, Wang Q, Liu J & Wang K. A comprehensive review of circRNA: from purification and identification to disease marker potential. *PeerJ*, 2018;6:e5503.
 40. Pinson MR, & Miranda RC. Noncoding RNAs in development and teratology, with focus on effects of cannabis, cocaine, nicotine, and ethanol. *Birth defects research*, 2019;111:1308-1319.
 41. Huang S, Yang B, Chen BJ, Bliim N, Ueberham U, Arendt T, & Janitz M. The emerging role of circular RNAs in transcriptome regulation. *Genomics*, 2017;109: 401-407.
 42. Lin YC, Lee YC, Chang KL & Hsiao KY. Analysis of common targets for circular RNAs. *BMC bioinformatics*, 2019;20:1-6.
 43. Bak RO & Mikkelsen JG. miRNA sponges: soaking up miRNAs for regulation of gene expression. *Wiley interdisciplinary reviews: RNA*, 2014;5:317-333.
 44. Yu CY & Kuo HC. The emerging roles and functions of circular RNAs and their generation. *Journal of biomedical science*, 2019;26:1-12.
 45. Bu Q, Long H, Shao X, Gu H, Kong J, Luo L, Liu B, Guo W, Wang H, Tian J, Zhao Y, Cen X. Cocaine induces differential circular RNA expression in striatum. *Translational Psychiatry*, 2019;9:199.
 46. Vornholt E, Drake J, Mamdani M, McMichael G, Taylor ZN, Bacanu SA, Miles MF, Vladimirov VI. Identifying a novel biological mechanism for alcohol addiction associated with circRNA networks acting as potential miRNA sponges. *Addiction biology*, 2021;26:e13071.
 47. Paudel P, Pierotti C, Lozano E, Amoah SK, Gardiner AS, Caldwell KK, Allan AM, Mellios N. Prenatal alcohol exposure results in sex-specific alterations in circular RNA expression in the developing mouse brain. *Frontiers in Neuroscience*, 2020;14:581895.
 48. Yu H, Xie B, Zhang J, Luo Y, Galaj E, Zhang X, Shen Q, Liu Y, Cong B, Wen D, Ma C. The role of circTmeff-1 in incubation of context-induced morphine craving. *Pharmacological Research*, 2021;170:105722.
 49. Shen Q, Xie B, Galaj E, Yu H, Li X, Lu Y, Zhang M, Wen D, Ma C. CircTmeff-1 in the nucleus accumbens regulates the reconsolidation of cocaine-associated memory. *Brain Research Bulletin*, 2022;185:64-73.
 50. Bu Q, Long H, Shao X, Gu H, Kong J, Luo L, Liu B, Guo W, Wang H, Tian J, Zhao Y, Cen, X. Cocaine induces differential circular RNA expression in striatum. *Translational Psychiatry*, 2019;9:199.
 51. Chen Y, Li X, Meng S, Huang S, Chang S, Shi J. Identification of Functional CircRNA-miRNA-mRNA Regulatory Network in Dorsolateral Prefrontal Cortex Neurons of Patients With Cocaine Use Disorder. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022;15:839233.
 52. Li J, Shi Q, Wang Q, Tan X, Pang K, Liu X, Zhu S, Xi K, Zhang J, Gao Q, Hu Y, Sun J. Profiling circular RNA in methamphetamine-treated primary cortical neurons identified novel circRNAs related to methamphetamine addiction. *Neuroscience Letters*, 2019;701:146-153.
 53. Li J, Sun Q, Zhu S, Xi K, Shi Q, Pang K, Liu X, Li M, Zhang Y, Sun J. Knockdown of

- circHomer1 ameliorates METH-induced neuronal injury through inhibiting Bbc3 expression. *Neuroscience Letters*, 2020;732:135050.
54. Zhao M, Wang R, Yang K, Jiang Y, Peng Y, Li Y, Zhang Z, Ding J, Shi S. Nucleic acid nanoassembly-enhanced RNA therapeutics and diagnosis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023;13:916-941.
55. Shen X, & Corey DR. Chemistry, mechanism and clinical status of antisense oligonucleotides and duplex RNAs. *Nucleic acids research*, 2018;46:1584-1600.
56. Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta, A, Vikram A, & Bahal R. Antisense oligonucleotides: an emerging area in drug discovery and development. *Journal of clinical medicine*, 2020;9:2004.
57. Batista-Duharte A, Sendra L, Jos M, Damiana T, Carlos IZ, & Aliño SF. Progress in the use of antisense oligonucleotides for vaccine improvement. *Biomolecules* 2020;10:316.
58. Lee LK, & Roth CM. Antisense technology in molecular and cellular bioengineering. *Current opinion in biotechnology*, 2003;14:505-511.
59. Thakur S, Sinhari A, Jain P, & Jadhav HR. A perspective on oligonucleotide therapy: Approaches to patient customization. *Frontiers in Pharmacology*, 2022;13:1006304.
60. Meng L, Ward AJ, Chun S, Bennett CF, Beaudet AL, & Rigo, F. Towards a therapy for Angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA. *Nature*, 2015;518: 409-412.
61. Michalik KM, You X, Manavski Y, Doddaballapur A, Zörnig M, Braun T, John D, Ponomareva Y, Chen W, Uchida S, Boon RA, & Dimmeler S. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth. *Circulation research*, 2014;114:1389-1397.
62. Modarresi F, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, Fatemi RP, Magistri M, Brothers SP, Brug M, & Wahlestedt C. Inhibition of natural antisense transcripts in vivo results in gene-specific transcriptional upregulation. *Nature biotechnology*, 2012;30:453-459.
63. Falese JP, Donlic A, Hargrove AE. Targeting RNA with small molecules: from fundamental principles towards the clinic. *Chemical Society Reviews*. 2021;50:2224-43.
64. Nectow AR, Nestler EJ. Viral tools for neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*. 2020;21:669-81.
65. Lundstrom K. Viral vectors applied for RNAi-based antiviral therapy. *Viruses*. 2020;12:924.
66. Borel F, Gernoux G, Sun H, Stock R, Blackwood M, Brown Jr RH, Mueller C. Safe and effective superoxide dismutase 1 silencing using artificial microRNA in macaques. *Science Translational Medicine*. 2018;10:eaau6414.
67. Yang B, Li S, Wang H, Guo Y, Gessler DJ, Cao C, Su Q, Kramer J, Zhong L, Ahmed SS, Zhang H. Global CNS transduction of adult mice by intravenously delivered rAAVrh. 8 and rAAVrh. 10 and nonhuman primates by rAAVrh. 10. *Molecular Therapy*. 2014;22:1299-309.
68. Martier R, Sogorb-Gonzalez M, Stricker-Shaver J, Hübener-Schmid J, Keskin S, Klima J, Toonen LJ, Juhas S, Juhasova J, Ellederova Z, Motlik J. Development of an AAV-based microRNA gene therapy to treat Machado-Joseph disease. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*. 2019;15:343-58.
69. Hudry E, Vandenberghe LH. Therapeutic AAV gene transfer to the nervous system: a clinical reality. *Neuron*. 2019;101:839-62.
70. Ross KA, Brenza TM, Binnebose AM, Phanse Y, Kanthasamy AG, Gendelman HE, Salem AK, Bartholomay LC, Bellaire BH, Narasimhan B. Nano-enabled delivery of diverse payloads across complex biological barriers. *Journal of controlled release*. 2015;219:548-59.
71. Yang J, Luo S, Zhang J, Yu T, Fu Z, Zheng Y, Xu X, Liu C, Fan M, Zhang Z. Exosome-mediated delivery of antisense oligonucleotides targeting α -synuclein ameliorates the pathology in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*. 2021;148:105218.
72. Salarpour S, Barani M, Pardakhty A, Khatami M, Chauhan NP. The application of exosomes and exosome-nanoparticle in treating brain disorders. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;350:118549.
73. Tosi G, Duskey JT, Kreuter J. Nanoparticles as carriers for drug delivery of macromolecules across the blood-brain barrier. *Expert opinion on drug delivery*. 2020;17:23-32.
74. Dhuri K, Vyas RN, Blumenfeld L, Verma R, Bahal R. Nanoparticle delivered anti-miR-141-3p for stroke therapy. *Cells*. 2021;10:1011.
75. Chivero ET, Liao K, Niu F, Tripathi A, Tian C, Buch S, Hu G. Engineered extracellular vesicles loaded with miR-124 attenuate cocaine-mediated activation of microglia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020;8:573.
76. Shilo M, Motiei M, Hana P, Popovtzer R. Transport of nanoparticles through the blood-brain barrier for imaging and therapeutic applications. *Nanoscale*. 2014;6(4):2146-52.
77. Zhou Y, Zhu F, Liu Y, Zheng M, Wang Y, Zhang D, Anraku Y, Zou Y, Li J, Wu H, Pang X. Blood-brain barrier-penetrating siRNA nanomedicine for Alzheimer's disease therapy. *Science advances*. 2020;6:eabc7031.
78. Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhali S, Wood MJ. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nature biotechnology*. 2011;29:341-5.
79. Chen L, Watson C, Morsch M, Cole NJ, Chung RS, Saunders DN, Yerbury JJ, Vine

KL. Improving the delivery of SOD1 antisense oligonucleotides to motor neurons using calcium phosphate-lipid nanoparticles. Frontiers in neuroscience. 2017;11:476.

Etik Bilgiler

Etik Bilgiler Etik Kurul Onayı: Bu makale bir derleme yazısı olduğu için Etik Kurul Onayı alınmasına gerek yoktur.

Telif Hakkı Devir Formu: Yazar tarafından Telif Hakkı Devir Formu imzalanmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Hakem değerlendirmesinden geçmiştir.

Yazar Katkıları: Konsept: SAA, SM. Tasarım: SAA, SM. Veri Toplama veya İşleme: SAA, SM. Analiz veya Yorum: SAA, SM. Literatür Taraması: SAA, SM. Yazma: SAA, SM.

Çıkar Çatışması Bildirimi: Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün TDK-2020-35144 numaralı projesi ile desteklenen doktora tezi kapsamında üretilmiştir.