

BELLEĞİN EPİGENETİK DÜZENLENMESİ: MİKRORNA'LARIN ROLÜ
THE EPIGENETIC REGULATION OF MEMORY: THE ROLE OF MICRORNAS

Sebahattin KARABULUT¹, Keziban KORKMAZ BAYRAMOV², Asuman GÖLGEİ¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

ÖZ

“MikroRNA(miRNA)’lar” kodlanmayan RNA’lar sınıfına ait moleküller olup, protein sentezinin transkripsiyon sonrası (posttranskripsiyonel) düzenleyicileri olarak tanımlanırlar. Bu posttranskripsiyonel düzenlemenin neredeyse tüm biyolojik süreçlerde rol oynadığı düşünülmektedir. Son zamanlarda miRNA aracılı bu regülasyonun, aktivite bağımlı gen ekspresyonunun yer aldığı öğrenme ve bellek oluşumu için de kritik olduğu anlaşılmıştır. Bu endojen RNA’ların sadece öğrenme ve bellek gibi normal beyin fonksiyonlarında değil, aynı zamanda bilişsel işlevlerin etkilendiği çok sayıda nörodejeneratif hastalığın fizyopatolojisinde de işe karıştığı gösterilmiştir. Bu derlemede miRNA’ların sinaptik plastisitedeki rolleri ve bazı nörodejeneratif hastalıklarla ilişkileri ele alınmıştır. Nöral plastisitede miRNA’ların rollerinin tam olarak anlaşılması, bellek fonksiyonlarının bozulduğu nörolojik hastalıklar için genetik tedavilerin ve yeni teşhis yöntemlerinin gelişimine kapı açabilecektir.”

Anahtar kelimeler: mikroRNA, bellek, nörodejeneratif hastalıklar

1. GİRİŞ

Sinapslarda uyarılara yanıt olarak oluşan yapısal ve fonksiyonel değişiklikler “sinaptik plastisite” olarak tanımlanır. Sinaptik plastisite öğrenme ve belleğin fiziksel bileşenidir (1). Öğrenmeyle elde edilen bilginin kalıcı olarak depolanması (uzun erimli bellek) gen ekspresyonu ve protein sentezi gerektirir (2). Kalıcı anıların oluşumu sırasında sentez edilen proteinlerin sinapslarda yeniden yapılanma sürecine katıldığı, böylece sinaptik etkinlikte bir artışın olduğu bilinmektedir. Dendritlerdeki lokal protein sentezi de kalıcı sinaptik plastisitenin bazı formlarını destekleyerek bellek süreçlerine katkı sağlamaktadır. Omurgalı nöronlarındaki uyarıcı sinapsların % 90’ı dendritik dikenlerde (spine) oluşturulur ve dendritik protein sentezi bu dikenlerin dallanmasında ve genişlemesindeki uzun dönemli değişiklikleri destekler (3). Dolayısıyla protein sentezinin

Makale Geliş Tarihi : 25.04.2017

Makale Kabul Tarihi: 21.02.2018

ABSTRACT

“MicroRNAs (miRNAs)” are a class of non-coding RNAs defined as posttranscriptional regulators of protein synthesis. It is believed that this posttranscriptional regulation has been implicated in virtually all aspects of biological processes. Recently, it has been understood that miRNA-mediated regulation is critical for learning and memory formation which requires activity-dependent gene expression. Emerging evidence indicates that these endogenous RNAs are involved in not only normal brain functions such as learning and memory, but also the pathophysiology of many neurodegenerative diseases in which cognitive functions are influenced. In this review, the roles of miRNAs in synaptic plasticity and their relation to some neurodegenerative diseases are discussed. With further elaboration of the role of miRNAs in neural plasticity, the door will be opened for the development of new diagnostic tests and genetic therapies for neurodegenerative diseases in which memory functions are impaired.”

Keywords: microRNA, memory, neurodegenerative disease

translasyonel kontrolü, bellek için kritik olan sinaptik bağlantıların fonksiyonunu düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır.

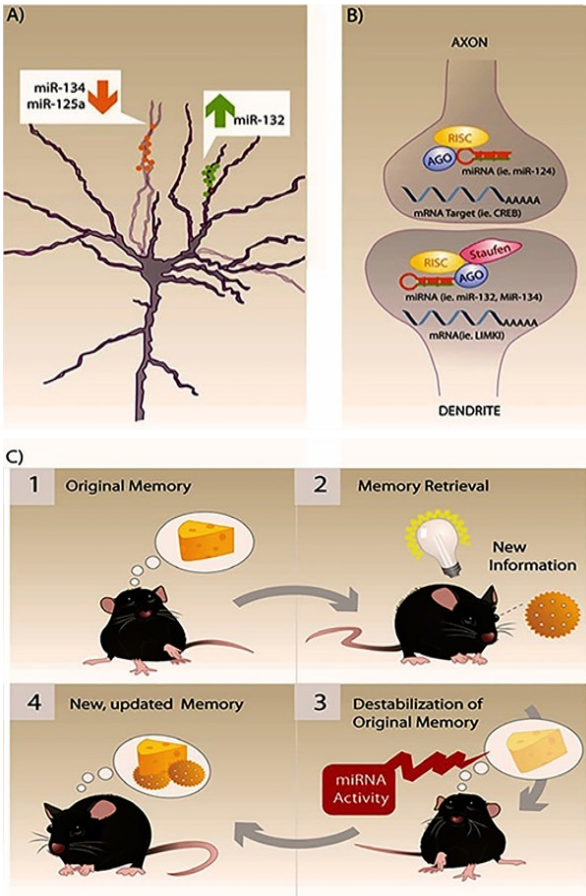
miRNA’lar hedef mesajcı RNA (mRNA)’lara bağlanan kısa (~ 22 baz çifti uzunluğunda) ve kodlamayan RNA molekülleri olup, protein translasyonunu posttranskripsiyonel olarak düzenleyebilirler (4). Önceleri “junk (çöp) RNA” lar olarak göz ardı edilen bu RNA sınıfı, son zamanlarda insan genlerinin 2/3’ünü kontrol ettiği tahmin edilen ve birçok fizyolojik süreçte yer alan moleküller olarak kabul edilmektedir (5). Çok sayıda miRNA’nın yetişkin beyinde, özellikle de hipokampus ve kortekste eksprese edildiği gösterilmiştir (6). Ayrıca fare hipokampal postsinaptik density (PSD; postsinaptik nöronun reseptörlerinin elektron

Corresponding Author: E-mail : Sebahattin Karabulut, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri
Telefon: 0505 675 7344
E-mail: sbkarabult@yandex.com

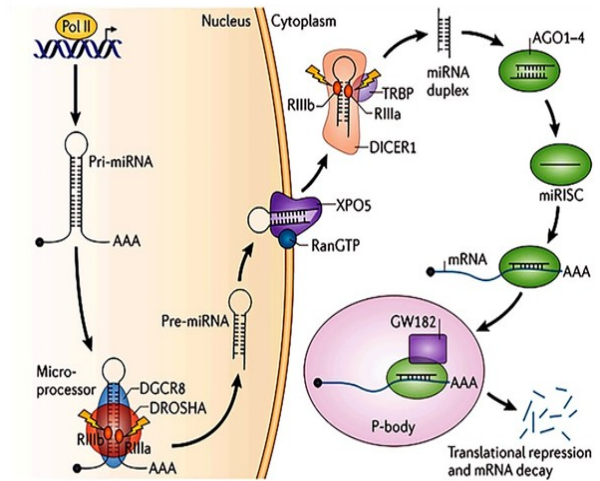
mikroskop kesitlerinde görülen yoğun bölgesi)'de primer ve prekürsör miRNA'ların yanı sıra bunların işleme enzimleri olan Drosha ve Dicer'in (olgun miRNA oluşumunu katalize eden RNA III polimeraz enzimleri) lokalize olduğu gösterilmiştir (7,8). Bunun yanında, mRNA-miRNA kompleksi içeren yapılar olan "P cisimcikleri'nin (P bodies)" dendritlerde yer aldığı (9) ve miRNA'ların sinaptik düzeyde poliribozomlarla eş lokalizasyon gösterdiği bulunmuştur (10). Gelişimin erken dönemlerinde dendrit ve sinaps oluşumunun yanı sıra miRNA'lar yetişkin beyninde de sinapslarda, dendritik dikenlerde ve somalarda aktiviteye bağımlı bir tarzda lokal protein sentezini kontrol edebilirler. Bu yönleriyle nöral proteomik profilin dinamik olarak değişimine izin veren miRNA'lar, nöronal gen ekspresyonunu regüle ederek belleğe entegre olduğu düşünülen "sinaptik özgülüğe" aracılık edebilirler (11) (Şekil- I). Ayrıca, Alzheimer ve Parkinson gibi nörolojik hastalıklara sahip hastaların beyinlerinde değişmiş miRNA ekspresyonunun belirlenmesi, nörolojik hastalıkların fizyopatolojisinde bu moleküllerin rolü olabileceğini aklı getirmektedir (12). Bütün bu bulgular gen ağının miRNA temelli düzenlenmesinin normal beyin fonksiyonları için önemli olduğuna ve bu düzenlemede oluşabilecek bozulmaların anormal beyin fonksiyonlarıyla sonuçlanabileceğine işaret etmektedir.

2. miRNA BİYOGENEZİ

Çekirdekli hücrelerin genomunda kodlanan miRNA genleri, "primer miRNA (pri-miRNA)" yı oluşturmak üzere çoğunlukla RNA polimeraz II tarafından transkripsiyona uğrar (14). Transkripsiyonu takiben, bir RNA polimeraz III enzimi Drosha ve onun kofaktörü olan "DiGeorge sendromu kritik bölge protein 8 (DGCR8)" ile birlikte "mikroişlemci kompleksi" denilen büyük bir protein yapıyı oluştururlar. Bu mikroişlemci kompleksi pri-miRNA'dan yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda "öncü miRNA (pre-miRNA)" oluşumunu sağlar. Çekirdek zarında bulunan Exportin 5 ile sitoplazmaya geçen pre-miRNA (15), burada bulunan bir RNA polimeraz III enzimi Dicer tarafından işlenerek yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda olgun miRNA çifti oluşur (16). Bu çift-iplikli RNA molekülünün bir ipliği yıkılır, diğeri ise RISC (RNA-induced silencing complex) oluşturmak üzere Argonaut protein kompleksiyle birleşir (17) (Şekil II). RISC tek-iplikli olgun miRNA'yı, mRNA'nın "3' kodlamayan bölge (3' UTR)" sine bağlanmaya yönlendirerek eşleşme düzeyine göre mRNA'nın ya yıkılmasına ya da translasyonun engellenmesine neden olur. RISC/miRNA kompleksi tarafından mRNA'nın tanınması genelde miRNA'nın 5' ucundaki 2-8 nükleotidin yer aldığı bir "tohum dizisi (seed sequence)" bölgesine dayanmaktadır (18).



Şekil I- miRNA'ların nöral plastisitedeki rolleri. (A) Gelişimin erken döneminde dendrit oluşumunu düzenleyerek, (B) Sinapslarda translasyonu lokal olarak düzenleyerek, (C) Yeni anıların edinilmesine olanak sağlamak için eski anıları kısıtlayarak (Bredy TW, et al., 2011).



Nature Reviews | Cancer

Şekil II. miRNA Biyogenez Yoluğu (Lin S and Gregory RI, 2015)

3. SİNAPTİK PLASTİSİTEYLE İLİŞKİLİ miRNA'LAR

3.1. miR-132

miR-132 geni insanlarda 17. kromozomdaki intergenik (genler arası) bölgede bulunan miR-132/212 gen kümesi (cluster)'nde yer alır (19). miRNA transkripsiyonunun nöronal aktiviteyle indüklenmesi ve bu süreçte cAMP response element binding protein (CREB)'in yer aldığı ilk olarak miR-132 üzerinde yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (20,21). Uzun erimli bellek oluşumunda plastisiteyle ilişkili genlerin *de novo* transkripsiyonunda yer alan ve bellek için önemli bir transkripsiyon faktörü olarak kabul edilen CREB, aynı zamanda miR-132 transkripsiyonunu da kontrol etmektedir. Nudelman ve arkadaşları nöronal stimülasyonun *in vivo* hipokampal miR-132'nin CREB-aracılı transkripsiyonunu aktive ettiğini

göstermişlerdir (22). Daha sonraları da fotik stimülasyon, asosiyatif (ilişkisel) öğrenme ve nöbet gibi nöronal aktivasyonların beyinde miR-132/212 gen kümesinin transkripsiyonunda bir artışa yol açtığı gösterilmiştir (23-25).

miR-132'nin en iyi bilinen hedef genlerinden biri, bir GTPaz aktive edici protein olan ve dendritik spinogenezde negatif rol oynayan "p250GAP" dır. Vo ve arkadaşları kortikal nöron kültürlerinde miR-132 up regülasyonunun p250GAP mRNA'sını hedefleyerek dendritik büyümeyi artırdığını göstermişlerdir (20). Wayman ve arkadaşları ise miR-132'nin hipokampal nöronlarda dendritik morfogenezini teşvik ettiğini ve miR-132 inhibisyonunun bu etkiyi ortadan kaldırdığını rapor etmişlerdir (21). Ayrıca Leptinin hipokampüste miR-132 düzeyini artırarak p250GAP aktivitesini azalttığı ve CREB transkripsiyonunu indükleyerek hipokampüste dendritik diken oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (26). Bu çalışmalar miR132-p250GAP yolağının aktivite bağımlı yapısal ve fonksiyonel plastisitede anahtar rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. miR-132'nin negatif olarak düzenlediği diğer bir gen, sinaptik plastisitede yer alan ve gen ekspresyonunun transkripsiyonel bir baskılayıcısı olarak hareket eden "MECP2 (methyl CpG binding protein 2)" yi kodlamaktadır (27). MECP2, metillenmiş CpG adalarını içeren genleri baskılar ve histon proteinleriyle etkileşime girerek kromatinin kondense olmasına katkıda bulunur (28). MECP2 geninin mutasyonu mental gerilikle karakterize kalıtsal bir nörolojik hastalık olan Rett Sendromuna yol açmaktadır. Farelerde hipokampal miR-132'nin transgenik over-ekspresyonunun MECP2 düzeyinde azalmaya yol açtığı ve aşırı dendritik diken oluşumuyla birlikte uzamsal bellek performansında bozulmaya sonuçlandığı gösterilmiştir (29). Aynı grup, daha sonra miR-132'nin hipokampüste uzamsal bir davranışsal görevden sonra up regüle edildiğini ve artmış dendritik diken oluşumunun miR-132'nin fizyolojik olmayan aşırı miktarlarının bir yan etkisi olduğunu ortaya koymuştur (24). Diğer taraftan, Hernandez-Rapp ve arkadaşları miR-132/212 nakavt farelerde uzamsal bellek oluşumunun bozulduğunu rapor etmişlerdir (30). Benzer sonuçlar postmitotik eksitator nöronlarda miR-132/212 şartlı nakavt farelerde de gözlemlenmiştir (31). Sonuç olarak miR-132'nin plastisitenin aktivite bağımlı bir düzenleyicisi olduğu ve ekspresyonunun normal bir öğrenme-bellek fonksiyonu için sınırlı aralıklarda tutulması gerektiği anlaşılmıştır. miR-132'nin hedeflediği genler bunlarla sınırlı olmayıp, sinaptik plastisiteyle ilişkili olan çok sayıda transkript bu RNA molekülünü tarafından düzenlenebilmektedir. Bunlar arasında göze çarpanlar transkripsiyonel koaktivatör p300, transkripsiyon faktörü RFX4, Matrix Metalloproteinaz 9 (MMP-9)'dur (19). Jazinska ve arkadaşları miR-132'nin MMP-9 mRNA'sını hedefleyerek dendritik diken oluşumunu düzenlediğini göstermişlerdir (32). Ayrıca miR-132 ekspresyonunun Alzheimer, Şizofreni, Rett Sendromu ve Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda bozulduğu bilinmektedir (24). Dolayısıyla fizyolojik ve patolojik koşullardaki miR-132 regülasyonu hakkında bilgilerin artması bu hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımları gündeme getirebilecektir.

3.2. miR-124

miR-124 hipokampüste yüksek derecede eksprese edilen, erken nöronal farklılaşmada ve sinaps oluşumunda yer alan bir miRNA'dır (33, 34). miR-124'ün CREB'i hedeflemesi ilk kez öğrenme ve bellek çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir deniz omurgasız olan *Aplysia*'da gösterilmiştir (35). Bu çalışmada miR-124'ün CREB'i suprese ederek serotoninin indüklediği sinaptik kolaylaştırmayı sınırladığı gösterilmiştir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş bir antagomir ile miR-124'ün inhibisyonu ise tersi etki göstererek sinaptik kolaylaştırmayı düzeltmiştir (35). Yang ve arkadaşları da miR-124 over-ekspresyonlarının uzamsal bellek performansını ve hipokampüste öğrenmenin hücrel korelasyonu olan LTP (Long Term Potentiation: uzun erimli güçlendirme)'yi bozduğunu göstermişler ve miR-124'ün bellek için kritik bir molekül olan zif268'in ekspresyonunu azalttığını rapor etmişlerdir (36).

3.3. miR-9

miR-9 yetişkin beyninin hipokampus gibi nörojenik bölgelerinde ve nöral prekürsör hücrelerinde yüksek derecede eksprese edilen bir miRNA'dır (37). Giusti ve arkadaşları miRNA sponge tekniği (miRNA'ya bağlanarak etkisini inhibe eden bir anti-miRNA tekniği) kullanarak hipokampal nöronlarda miR-9'un inhibisyonunun dendritik büyümede ve sinaptik iletide bir bozulmayla sonuçlandığını rapor etmişlerdir (38). Bu inhibisyona REST'in güçlü bir up regülasyonunun eşlik ettiğinin gösterilmesiyle, miR-9'un *in vivo* REST'i hedefleyerek sinaptik plastisitede rol oynadığı anlaşılmıştır. Ayrıca Sim ve arkadaşları miR-9'un hipokampal inhibisyonunun LTP'de ve öğrenme ve bellek fonksiyonunda bozulmaya yol açtığını göstermişlerdir (39). Malmeyk ve arkadaşları hipokampüste miR-9'un inhibisyonunun bozulmuş uzamsal bellek performansı ile birlikte, 31 gende up regülasyona ve 69 gende down regülasyona yol açtığını rapor etmişler ve miR-9'un sinaptik fonksiyon ve nörodejenerasyonda rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir (40).

3.4. Diğer miRNA'lar

Beyin-spesifik bir miRNA olan miR-134, LIM domain kinase 1 (LIMK 1) denilen bir kinazı hedefleyerek dendritik büyümeyi düzenlemektedir. Schrat ve arkadaşları miR-134 over-ekspresyonunun *in vitro* hipokampal nöronlarda dendritik diken hacminde ve sinaptik güçte önemli bir azalmaya yol açtığını göstermiştir (41). Benzer şekilde, hipokampal nöronların dendritlerinde yüksek oranda bulunan miR-138 bir depalmitasyon enzimi olan "acyl-protein thioesterase-1 (APT1)" i down regüle ederek dendritik diken oluşumunu negatif olarak düzenlemektedir (42). miR-182'nin yapısal plastisitede yer alan aktin düzenleyiciler Rac1 ve Cortactin ile etkileştiği bilinmektedir. Griggs ve arkadaşları amigdala bağımlı bellek oluşumunda işitsel korku koşullanmasının lateral amigdalada miR-182'yi down regüle ettiğini gösterirken, Woldemichael ve arkadaşları miR-182'nin hipokampus bağımlı uzamsal bir görevi öğrenmeden sonra hipokampüste up regüle edildiğini rapor etmişlerdir (43, 44). Sinaptik plastisitede ve öğrenme-bellek

gibi beyin fonksiyonlarda rolü olduğu gösterilen miRNA'lar Tablo-I'de verilmiştir.

downregüle edildiği gözlenmiştir (61). Hebert ve arkadaşları sporadik AH'na sahip kişilerin kortekslerinde 13

Tablo-I. Sinaptik Plastisite ve Bellekte Rolü Olan miRNA'lar ve Bilinen Hedef Genleri

miRNA	Hedef Genler	Bilişsel Fonksiyonlardaki Rolü	Referanslar
miR-9	REST	sinaptik plastisite	38
miR-124	CREB, zif268, FMR1	sinaptik plastisite, öğrenme ve bellek	35; 36; 40
miR-125b	NR2A	sinaptik plastisite	45
miR-128b	Rcs	Korku-silinme (fear-extinction) bellek	46
miR-132	p250GAP, MecP2, p300	sinaptik plastisite, öğrenme ve bellek	22; 24; 21; 45
miR-134	LimK1, CREB, Pumilio2, SIRT1	sinaptik plastisite, öğrenme ve bellek	41; 47; 48
miR-137	MIB1	sinaptik plastisite, öğrenme ve bellek	49; 50
miR-182	BDNF, HDAC9	sinaptik plastisite	51; 44
miR-219	CAMK II	sinaptik plastisite	52
miR-325	Tomozin	sinaptik plastisite	53

4. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA miRNA'LAR

Nörodejeneratif hastalıklar, merkezi sinir sistemindeki spesifik nöronal grupların yapısal ve fonksiyonel kayıplarıyla karakterize bir hastalık grubunu temsil etmektedir. En yaygın olanları Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalığı olup protein agregasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve aksonal transport bozukluğu bu hastalıkların ortak özellikleridir (54). Son yıllarda nörodejeneratif hastalıklarda miRNA'ların rolünün açığa çıkarılması çok sayıda araştırmacının ilgisini bu alana çekmeyi başarmıştır. Öyle ki, bazı nörodejeneratif hastalıklara sahip hastaların beyinlerinde değişmiş miRNA ekspresyonunun belirlenmesi, bu hastalıkların fizyopatolojisinde bu moleküllerin rolü olabileceğini düşündürmektedir (12). İnsanlarda yaşlanmakla birlikte miRNA fonksiyonundaki bozulmanın nörodejeneratif fenotipten sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. (55). Bellek fonksiyonunda rolleri en çok çalışılan miRNA'lar olan miR-132, miR-124 ve miR-34'ün ekspresyonunun yukarıda belirtilen majör nörolojik hastalıklarda bozulduğu bilinmektedir (56).

4.1. Alzheimer hastalığı ve miRNA'lar

Alzheimer hastalığı (AH) geç-başlangıçlı, yaygın ve kognitif bozuklukla ilişkili nörodejeneratif bir hastalıktır (57). AH'da patolojik değişiklikler hücre dışında amiloid-beta (A β) plaklarının birikimi ve hücre içinde hiperfosforile tau proteinini içeren nörofibriller yumaklarının oluşumudur (58). miRNA ekspresyon profili çalışmaları bu hastalığa sahip bireylerin beyinlerinde bazı miRNA'ların up regüle, bazılarının down regüle olduğunu açığa çıkarmıştır. Lukiw ve arkadaşları AH'lı beyinlerin hipokampuslarında miR-9 ve miR-128 ekspresyonunun up regüle edildiğini göstermişlerdir (59). Wang ve arkadaşları ise miR-107'nin ekspresyonunun AH'nin erken evresinde down regüle olduğunu göstermişlerdir (60). Başka bir çalışmada miR-124'ün AH'da

down regüle miRNA (miR-181c, -15a, -9, -101, -29b, -19b, -106b, -26b vs) ve 3 up regüle miRNA olduğunu belirlemişlerdir (62). miRNA profil çalışmalarında farklı sonuçların gözlenmesi küçük örneklem boyutuna ve farklı deneysel yaklaşımlara atfedilmektedir (12). Lee ve arkadaşları hipokampal nöron kültürlerinin miR-206 transfeksiyonu ile (bir genin plazmid aracılığı ile ökaryot hücreye taşınması) dendritik diken yoğunluğunun arttığını ve miR-206 antogomir ile transfeksiyonda ise diken yoğunluğunun azaldığını rapor etmişlerdir (63). AH'lı bireylerin temporal loblarında up regüle edilen miR-206 dendritik diken oluşumunu düzenleyerek AH etyolojisine katkı sağlayabilir. Müller ve arkadaşları AH'na sahip hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS)'da miR-146a'nın down regüle olduğunu göstermişlerdir (64). Yeni çalışmalarla kan, plazma ve serum gibi dolaşım sıvılarında bulunan ekzozomal miRNA'ların AH'nin erken aşamasını yansıtan periferel biyobelirteçler olarak kullanılabilmesi öngörülmektedir (65).

4.2. Parkinson hastalığı ve miRNA'lar

Parkinson hastalığı (PH) bradikinezi, tremor, rijidite ve sonunda postural bozuklukla karakterize ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (66). Bu klinik bulgular substantia nigra'da dopaminerjik nöron kaybıyla ve nöron içinde α -synuclein gibi proteinlerin anormal birikimiyle (Lewy bodies) ilişkilidir (67). PH klasik olarak bir motor bozukluk kabul edilse de, son veriler erken dönemde bilişsel fonksiyonlardaki bozulmanın hastalarda motor bozuklukların başlamasından önce ortaya çıktığına işaret etmektedir (68). Parkinson'lu hastaların ve hastalıklı olmayan kontrol deneklerin ön beyinde miRNA ekspresyon profili çalışmasında, miR-133b Parkinson'lu beyinde düşük bulunmuştur (69). Fonksiyonel çalışmalar miR-133b'nin dopaminerjik nöronların matürasyonunu ve fonksiyonunu düzenlediğine işaret etmektedir (70). Bu düzenlemede dopaminerjik nöron-

ların farklılaşmasında rol alan bir transkripsiyon faktörü "Pitx3" ün rol oynadığı anlaşılmıştır, öyle ki Pitx3 mRNA'sı miR-133b'nin hedeflerinden birisidir (12). Minones-Moyano ve arkadaşları Parkinson hastalığından etkilenmiş beyin bölgelerinde (amigdala, substantia nigra, serebellum) miR-34b ve miR-34c ekspresyonlarının down regüle olduğunu göstermişlerdir (71). Kabaria ve arkadaşları miR-34b ve miR-34c'nin α -synuclein ekspresyonunu doğrudan hedeflediğini göstermişlerdir (72). Wang ve arkadaşları ise PH'nin bir fare modelinde substantia nigra'da dopaminerjik nöronlarda miR-124'ün down regüle edildiğini rapor etmişlerdir (73).

4.3. Huntington hastalığı ve miRNA'lar

Huntington hastalığı (HH) "huntingtin (htt)" geninde anormal trinükleotid-CAG tekrarlarının yer aldığı, kortikal nöronal kayıpla sonuçlanan ve bilişsel ve motor bozuklukla karakterize yaygın bir nörodejeneratif hastalıktır (74). HH'da patolojik nöron kaybı korteks ve striatumda ortaya çıkar (54). Mutant htt proteinin miRNA işleme proteini Ago 2 ile etkileşerek P body oluşumunu inhibe ettiğinin gösterilmesi, bu hastalığın miRNA bozukluğuyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (75). Johnson ve arkadaşları HH'nin bir fare modeli olan R6/2'nin korteksinde miR-29a, -124a, -132 ve -330 ekspresyonunun azalmış olduğunu rapor etmişlerdir (76). Bunlardan miR-132'nin down regülasyonu aynı grup tarafından postmortem beyin analizlerinde hastalığa sahip bireylerin parietal kortekslerinde de doğrulanmıştır. Normalde htt proteini nöronlarda "nöron kısıtlayıcı susturma faktörü" olarak bilinen REST transkripsiyon faktörüyle ilişkilidir (77). HH'dan etkilenmiş bireylerin serebral korteks miRNA ekspresyon çalışmasında miR-9/miR-9*'un büyük oranda azalmış olduğu gözlenmiştir (78). miR-9/miR-9* REST'in iki komponentini hedefler, bu yüzden HH'da bu miRNA'ların azalmış ekspresyonu REST'in nöronlarda anormal birikimine yol açmaktadır.

4.4. Diğer Nörodejeneratif Hastalıklar ve miRNA'lar

Yukarıda ayrıntılı olarak bahsedilen bu üç nörodejeneratif hastalığın yanı sıra Frajil X Sendromu (FXS), Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), Rett Sendromu, Epilepsi gibi nöronal patolojilerde de bozulmuş miRNA regülasyonu bildirilmiştir. FXS, "fracil X mental retardasyon proteini (FMRP)" kodlayan gende trinükleotid tekrarlarının yol açtığı mental gerilikle karakterize konjenital bir hastalıktır (79). FXS'da nöronlarda aşırı protein birikimiyle birlikte, dendritik morfoloji ve sinaptik iletimde bozulma söz konusudur. Bir RNA bağlanma proteini olan FMRP'nin normal gelişim sırasında miR-125 ve miR-132 ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (45, 29). Beyin ve omurilik motor nöronlarının etkilendiği bir nörolojik hastalık olan ALS'de, spinal kordda miR-24, -146, -155'in anormal düzeyleri bulunmuştur (80, 81). Epileptik beyin dokularından alınan örnekler miR-23a, miR-34a, miR-132 ve miR-146a'nın değişmiş ekspresyonunu ortaya çıkarmıştır (82). Nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilen miRNA'lar Tablo-II'de sunulmuştur.

Nörodejeneratif hastalıkların patogenezindeki anormal protein agregasyonu ve miRNA'ların gen ekspresyonunu bloke etme potansiyeli birlikte düşünülerek, kontrollü miRNA-aracılı düzenlemeyle bu hastalıklar için yeni bir terapötik alan doğmuştur. Hali hazırdaki miRNA-tabanlı terapötik yaklaşımlar iki grupta toplanabilir: miRNA taklitleri ve miRNA antagonistleri (anti-miRNA'lar) (12). miRNA taklitleri, olgun miRNA ile aynı sekansa sahip moleküller olup hedeflenen genlerin ekspresyonunu down regüle etmek için kullanılabilir. Bu stratejinin amacı miRNA'nın over-ekspresyonuyla hedeflenen mRNA'nın down regülasyonudur. miRNA taklitlerinin kan beyin bariyerini geçme zorunluluklarından dolayı beyin hastalıklarında kullanılması zor gözükmektedir (74). miRNA-temelli tedavi seçeneklerinin ikinci grubu olan anti-miRNA'lar, etkisi azaltılmak istenilen miRNA'ya komplementer olan bir RNA molekülünü temsil ederler. Stoffel'in grubu RNA'nın bir hücreye girmesine yardım edecek şekilde koles-

Tablo-II. Nörodejeneratif Hastalıklarla İlişkili miRNA'lar

Hastalık	miRNA	Referanslar
AH	miR-9, miR-128, miR-125b	59
AH	miR-124	61
AH	miR-206	63
AH	miR-146a	64
PH	miR-133b	69
PH	miR-34b ve miR-34c	71
PH	miR-124	73
HH	miR-29a, -124a, -132, -330	76
HH	miR-9/miR-9*	78
FXS	miR-125 ve miR-132	45; 29
ALS	miR-24, -146, -155	80; 81
Epilepsi	miR-23a, -34a, -132, -146a	82

terol molekülüne RNA parçacıklarını ekleyerek "antagomir"leri geliştirmişlerdir (83). Antagomirlerin kan beyin bariyerini geçemedikleri için istenilen beyin bölgesine lokal enjeksiyonları gerekmektedir. Hayvansal antagomir uygulaması çalışmalarında herhangi bir yan etkiyle karşılaşmamış olsa da, insanlarda kolesterol aracılı miRNA uygulamasının (özellikle beyin için) olası zararlı etkileri konusunda endişeler söz konusudur. Sonuç olarak miRNA'ların nörodejeneratif hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımı için daha fazla zamana ve çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Sonuç

Son yıllarda miRNA'ların sinirsel fonksiyonları düzenlemedeki etkin rolleri ve nörodejeneratif hastalıklardaki bozulmuş regülasyonları hakkında biriken kanıtlar, protein kodlamayan bu kısa RNA'ları merkezi sinir sisteminin anahtar moleküler araçları konumuna taşımıştır. Protein sentezinin posttranskripsiyonel düzenleyicileri olarak, miRNA'ların hastalık patogenezinde yer alan proteinleri hedeflemesi yeni bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Bunun yanında nörodejeneratif hastalıklardaki değişmiş miRNA ekspresyonu göz önüne alındığında, bu durumda endojen miRNA'ların bloke edilmesi ya da eksojen miRNA'ların verilmesi diğer bir seçenek olacaktır. miRNA biyogenezinin kompleks doğasıyla birlikte çoğu aşamasının aktivite-bağımlı regülasyonu ve bir miRNA'nın yüzlerce geni hedeflemesi gibi durumlar ciddi dezavantajlar olarak göze çarpmaktadır. miRNA alanındaki gelişmeler, tedavisi olmayan nörodejeneratif hastalıkların altında yatan temel neden-sonuç faktörlerin aydınlatılması ve bu rahatsızlıkların tedavisi için büyük umutlar vadetmektedir.

KAYNAKLAR

1. Benington JH, Frank MG. Cellular and molecular connections between sleep and synaptic plasticity. *Prog Neurobiol* 2003; 69:71-101.
2. Davis HP, Squire LR. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull* 1984; 96:518-559.
3. Sutton MA, Schuman EM. Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell* 2006; 127:49-58.
4. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116:281-297.
5. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10:126-139.
6. Bak M, Silahtaroglu A, Moller M, et al. MicroRNA expression in the adult mouse central nervous system. *RNA* 2008; 14:432-444.
7. Lugli G, Larson J, Demars MP, Smalheiser NR. Primary microRNA precursor transcripts are localized at post-synaptic densities in adult mouse forebrain. *J Neurochem* 2012; 123:459-466.
8. Li S, Patel DJ. Drosha and Dicer: Slicers cut from the same cloth. *Cell Res* 2016; 26:511-512.
9. Barbee SA, Estes PS, Cziko AM, et al. FMRP-containing neuronal RNPs are structurally and functionally related to somatic P bodies. *Neuron* 2006; 52:997-1009.
10. Kim J, Krichevsky A, Grad Y, et al. Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:360-36.

11. Redondo RL, Morris RG. Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12:17-30.
12. Junn E, Mouradian MM. MicroRNAs in Neurodegenerative Diseases and Their Therapeutic Potential. *Pharmacol Ther* 2012; 133:142-150.
13. Bredy TW, Lin Q, Wei W, Baker-Andresen D, Mattick JS. MicroRNA regulation of neural plasticity and memory. *Neurobiol Learn Mem* 2011; 96:89-94.
14. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13:1097-1101.
15. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17:3011-3016.
16. Lee YS, Nakahara K, Pham JW, et al. Distinct roles for *Drosophila* Dicer-1 and Dicer-2 in the siRNA/miRNA silencing pathways. *Cell* 2004; 117:69-81.
17. Lin S and Gregory RI. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nature Reviews Cancer* 2015; 15:321-333.
18. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136:215-233.
19. Wanet A, Tacheny A, Arnould T, Renard P. miR-212/132 expression and functions: within and beyond the neuronal compartment. *Nucleic Acids Res* 2012; 40:4742-4753.
20. Vo N, Klein ME, Varlamova O, et al. A cAMP-response element binding protein-induced microRNA regulates neuronal morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:16426-16431.
21. Wayman GA, Davare M, Ando H, et al. An activity-regulated microRNA controls dendritic plasticity by down-regulating p250GAP. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:9093-9098.
22. Nudelman AS, DiRocco DP, Lambert TJ, et al. Neuronal activity rapidly induces transcription of the CREB-regulated microRNA-132, in vivo. *Hippocampus* 2010; 20:492-498.
23. Mellios N, Sugihara H, Castro J, et al. miR-132, an experience-dependent microRNA, is essential for visual cortex plasticity. *Nat Neurosci* 2011; 14:1240-1242.
24. Hansen KF, Karelina K, Sakamoto K, et al. miRNA-132: a dynamic regulator of cognitive capacity. *Brain Struct Funct* 2013; 218:817-831.
25. Jimenez-Mateos EM, Bray I, Sanz-Rodriguez A, et al. miRNA Expression profile after status epilepticus and hippocampal neuroprotection by targeting miR-132. *Am J Pathol* 2011; 179:2519-2532.
26. Dhar M, Zhu M, Impey S, et al. Leptin induces hippocampal synaptogenesis via CREB-regulated microRNA-132 suppression of p250GAP. *Mol Endocrinol* 2014; 28:1073-1087.
27. Fan G, Hutnick L. Methyl-CpG binding proteins in the nervous system. *Cell Res* 2005; 15:255-261.
28. Adkins NL, Georgel PT. MeCP2: structure and function. *Biochem Cell Biol* 2011; 89:1-11.
29. Hansen KF, Sakamoto K, Wayman GA, Impey S, Obrietan K. Transgenic miR132 alters neuronal spine density and impairs novel object recognition

- memory. *PLoS One* 2010; 5:e15497.
30. Hernandez-Rapp J, Smith PY, Filali M, et al. Memory formation and retention are affected in adult miR-132/212 knockout mice. *Behav Brain Res* 2015; 287:15-26.
 31. Hansen KF, Sakamoto K, Aten S, et al. Targeted deletion of miR-132/-212 impairs memory and alters the hippocampal transcriptome. *Learn Mem* 2016; 23:61-71.
 32. Jasińska M, Miłek J, Cymerman IA, Łęski S, Kaczmarek L, Dziembowska M. miR-132 Regulates Dendritic Spine Structure by Direct Targeting of Matrix Metalloproteinase 9 mRNA. *Mol Neurobiol* 2016; 53:4701-4712.
 33. Eacker SM, Keuss MJ, Berezikov E, Dawson VL, Dawson TM. Neuronal activity regulates hippocampal miRNA expression. *PloS One* 2011; 6:e25068.
 34. Åkerblom M, Sachdeva R, Barde I, et al. MicroRNA-124 is a subventricular zone neuronal fate determinant. *J Neurosci* 2012; 32:8879-8889.
 35. Rajasethupathy P, Fiumara F, Sheridan R, et al. Characterization of small RNAs in Aplysia reveals a role for miR-124 in constraining synaptic plasticity through CREB. *Neuron* 2009; 63:803-817.
 36. Yang Y, Shu X, Liu D, et al. EPAC null mutation impairs learning and social interactions via aberrant regulation of miR-124 and Zif268 translation. *Neuron* 2012; 73:774-788.
 37. Motti D, Bixby JL, Lemmon VP. MicroRNAs and neuronal development. *Semin Fetal Neonatal Med* 2012; 17:347-352.
 38. Giusti SA, Vogl AM, Brockmann MM, et al. MicroRNA-9 controls dendritic development by targeting REST. *eLife* 2014; 3:1-22.
 39. Sim SE, Lim CS, Kim JI, et al. The Brain-Enriched MicroRNA miR-9-3p Regulates Synaptic Plasticity and Memory. *J Neurosci* 2016; 36:8641-8652.
 40. Malmevik J, Petri R, Knauff P, et al. Distinct cognitive effects and underlying transcriptome changes upon inhibition of individual miRNAs in hippocampal neurons. *Scientific Reports* 2016; 6:1-14.
 41. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, Greenberg ME. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature* 2006; 439: 283-289.
 42. Siegel G, Obernosterer G, Fiore R, et al. A functional screen implicates microRNA-138-dependent regulation of the dephosphorylation enzyme APT1 in dendritic spine morphogenesis. *Nat Cell Biol* 2009; 11:705-716.
 43. Griggs EM, Young EJ, Rumbaugh G, Miller CA. MicroRNA-182 regulates amygdala-dependent memory formation. *J Neurosci* 2013; 33:1734-1740.
 44. Woldemichael BT, Jawaid A, Kremer EA, et al. The microRNA cluster miR-183/96/182 contributes to long-term memory in a protein phosphatase 1-dependent manner. *Nat Commun* 2016; 25:12594.
 45. Edbauer D, Neilson JR, Foster KA, et al. Regulation of synaptic structure and function by FMRP-associated microRNAs miR-125b and miR-132. *Neuron* 2010; 65:373-384.
 46. Lin Q, Wei W, Coelho CM, et al. The brain-specific microRNA miR-128b regulates the formation of fear-extinction memory. *Nat Neurosci* 2011; 14:1115-1117.
 47. Gao J, Wang WY, Mao YW, et al. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature* 2010; 466:1105-1109.
 48. Fiore R, Khudayberdiev S, Christensen M, et al. Mef2-mediated transcription of the miR379-410 cluster regulates activity-dependent dendritogenesis by fine-tuning Pumilio2 protein levels. *EMBO J* 2009; 28:697-710.
 49. Smrt RD, Szulwach KE, Pfeiffer RL, et al. MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb-1. *Stem Cells* 2010; 28:1060-1070.
 50. Ripke S, Sanders AR, Kendler KS, et al. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet* 2011; 43:969-976.
 51. Li Y, Li S, Yan J, et al. miR-182 (microRNA-182) suppression in the hippocampus evokes antidepressant-like effects in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2016; 4:96-103.
 52. Kocerha J, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, et al. MicroRNA-219 modulates NMDA receptor-mediated neurobehavioral dysfunction. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106:3507-3512.
 53. Barak B, Shvarts-Serebro I, Modai S, et al. Opposing actions of environmental enrichment and Alzheimer's disease on the expression of hippocampal microRNAs in mouse models. *Transl Psychiatry* 2013; 3:1-13.
 54. Santulli G. microRNA: Medical Evidence From Molecular Biology to Clinical Practice. In: Qiu L, Tan EK, Zeng L (eds), *microRNAs and Neurodegenerative Diseases*. Springer International Publishing, Switzerland 2015, pp 85-107.
 55. Johnson R, Noble W, Tartaglia GG, Buckley NJ. Neurodegeneration as an RNA disorder. *Prog Neurobiol* 2012; 99:293-315.
 56. Hernandez-Rapp J, Rainone S, Hébert SS. MicroRNAs underlying memory deficits in neurodegenerative disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2017;73:79-86.
 57. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet* 2011; 377:1019-31.
 58. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry* 2015; 77:43-51.
 59. Lukiw WJ. Micro-RNA speciation in fetal, adult and Alzheimer's disease hippocampus. *Neuroreport* 2007;18:297-300.
 60. Wang WX, Rajeev BW, Stromberg AJ, et al. The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1. *J Neurosci* 2008; 28:1213-1223.

61. Smith P, Hashimi A, Girard J, Delay C, Hebert SS. In vivo regulation of amyloid precursor protein neuronal splicing by microRNAs. *J Neurochem* 2011; 116:240-247.
62. Hebert SS, Horre K, Nicolai L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:6415-6420.
63. Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. miR-206 regulates brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer disease model. *Ann Neurol* 2012; 72: 269-277.
64. Müller M, Kuiperij HB, Claassen JA, Küsters B, Verbeek MM. MicroRNAs in Alzheimer's disease: differential expression in hippocampus and cell-free cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging* 2014; 35:152-158.
65. Kumar S, Reddy PH. Are circulating microRNAs peripheral biomarkers for Alzheimer's disease? *Biochim Biophys Acta* 2016; 1862:1617-1627.
66. Shtilbans A, Henchcliffe C. Biomarkers in Parkinson's disease: an update. *Curr Opin Neurol* 2012; 25:460-465.
67. Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science* 2003; 302:819-822.
68. Aarsland, D. Cognitive impairment in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Parkinsonism Relat Disord* 2016; 22:144-148.
69. Kim J, Inoue K, Ishii J, et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science* 2007; 317:1220-1224.
70. Wang W, Kwon EJ, Tsai HL. MicroRNAs in learning, memory, and neurological diseases. *Learn Mem* 2012; 19:359-368.
71. Minones-Moyano E, Porta S, Escaramís G, et al. MicroRNA profiling of Parkinson's disease brains identifies early downregulation of miR-34b/c which modulate mitochondrial function. *Hum Mol Genet* 2011; 20:3067-3078.
72. Kabaria S, Choi DC, Chaudhuri AD, Mouradian MM, Junn E. Inhibition of miR-34b and miR-34c enhances α -synuclein expression in Parkinson's disease. *FEBS Lett* 2015; 589:319-325.
73. Wang H, Ye Y, Zhu Z, et al. MiR-124 Regulates Apoptosis and Autophagy Process in MPTP Model of Parkinson's Disease by Targeting to Bim. *Brain Pathol* 2016; 26: 167-176.
74. Maciotta S, Meregalli M, Torrente Y. The involvement of microRNAs in neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci* 2013; 7:1-17.
75. Savas JN, Makusky A, Ottosen S, et al. Huntington's disease protein contributes to RNA-mediated gene silencing through association with Argonaute and P bodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:10820-10825.
76. Johnson R, Zuccato C, Belyaev ND, et al. A microRNA-based gene dysregulation pathway in Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 2008; 29:438-445.
77. Zuccato C, Tartari M, Crotti A, et al. Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nat Genet* 2003; 35:76-83.
78. Packer AN, Xing Y, Harper SQ, Jones L, Davidson BL. The bifunctional microRNA miR-9/miR-9* regulates REST and CoREST and is downregulated in Huntington's disease. *J Neurosci* 2008; 28:14341-14346.
79. Jin P, Warren ST. Understanding the molecular basis of fragile X syndrome. *Hum Mol Genet* 2000; 9:901-908.
80. Campos-Melo D, Droppelmann CA, He Z, Volkening K, Strong MJ. Altered microRNA expression profile in Amyotrophic Lateral Sclerosis: a role in the regulation of NFL mRNA levels. *Mol Brain* 2013; 6:1-13.
81. Koval ED, Shaner C, Zhang P, et al. Method for widespread microRNA-155 inhibition prolongs survival in ALS model mice. *Hum Mol Genet* 2013; 22:4127-4135.
82. Henshall DC. MicroRNA and epilepsy: profiling, functions and potential clinical applications. *Curr Opin Neurol* 2014; 27:199-205.
83. Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438:685-689.