



BEKİR ERDOĞAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS

İSTANBUL-2016

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ALKOL BAĞIMLILIĞININ İNSAN BEYİN
DOKUSUNDAKİ MİR-124, 125B, 206 VE 339-5P
EKSPRESYOLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

BEKİR ERDOĞAN

**DANIŞMAN
PROF.DR. SADRETTİN PENÇE**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2016

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü.Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Programında Yüksek Lisans öğrencisi Bekir ERDOĞAN tarafından Prof. Dr.Sadrettin PENÇE'nin danışmanlığında hazırlanan "**Alkol Bağlılığın İnsan Beyin Dokusundaki miR-124, 125b, 206 ve 339-5p Ekspresyonları Üzeri Etkisi**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 19 / 09 /2016 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İ.Ü. A.S. DETAE Moleküler Tıp AD

Jüri

Prof. Dr. Ş.Ümit ZEYBEK
İ.Ü. A.S. DETAE Moleküler Tıp AD

Jüri Danışman

Prof. Dr. Sadrettin PENÇE
İ.Ü.A.S.DETAE Moleküler Tıp AD

Jüri

Prof. Dr. Arzu ERGEN
İ.Ü.A.S.DETAE Moleküler Tıp AD

Jüri

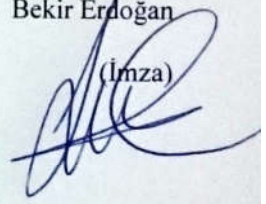
Doç. Dr. Fahri AKBAŞ
İ.Ü. Bezmialem V.Ün. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji AD

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bekir Erdoğan

(İmza)



İTHAF

Tezimi beni bu süreçte hiç yalnız bırakmayan Eşim Züheyra ERDOĞAN'a, benim buralara gelmemde büyük emeği olan Çıraklık Eğitim Merkezi'nden hocam Cevdet AYDIN'a ve anne-babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim süresince danışmanlığımı üstlenen ve her konuda destek olan sayın hocam Prof. Dr. Sadrettin PENÇE'ye, bu çalışmanın psikiyatrik değerlendirmeleri için yardımlarını esirgemeyen İÜ Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İlhan Yargıç'a, örneklerin toplanması konusunda yardımcı olan İstanbul Adli Tıp Kurumu'ndan Uzm.Dr. Erdoğan KARA ve Uzm.Dr. M. Feyzi ŞAHİN'e, etik kurul konusunda yardımlarını esirgemeyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr. Hasan Hüseyin EKER'e, yine yüksek lisans eğitim süresince her konuda desteğini esirgemeyen anabilim dalı başkanımız Prof.Dr. İlhan YAYLIM'a, tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen öğrenci arkadaşlarım Hani ALSADONİ ve Faruk ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince sağlamış olduğu maddi destekten dolayı Türkiye Yeşilay Cemiyeti'ne de teşekkürü bir borç bilirim.

Görevli olduğum Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde Bölüm Başkanı Doç.Dr. Ali UZUN'a da yüksek lisans eğitimim süresince göstermiş olduğu anlayış ve vermiş olduğu destekten dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca bu zorlu yol süresince gerek maddi gerek manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan başta eşim Züheyra ERDOĞAN'a, anne-babama, ağabeyim Özden ERDOĞAN'a ve diğer akraba ve dostlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 51136

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bağımlılık(Kullanım Bozukluğu) Nedir?	3
2.2. Alkol ve Alkol Kullanım Bozukluğu.....	3
2.2.1. Alkol Metabolizması.....	3
2.2.2. Kullanım Bozukluğu	7
2.2.2.1. Sosyolojik etkileri	9
2.2.2.2. Sağlık Yönünden Etkileri.....	9
2.3. Beyin	10
2.3.1. Beynin bölümleri:	11
2.4. miRNA nedir?	13
2.5. miR-124	15
2.6. miR-125b	24
2.7. MiR-206.....	27
2.8. MiR-339.....	28
2.9. Alkol Kullanım Bozukluğu ve miRNA'lar	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Dokuların Toplanması	31
3.2. Total RNA izolasyonu	31
3.3. cDNA sentezi	31

3.4. Real-Time PCR uygulama ve analizi.....	32
3.5. İstatistiksel Hesaplamalar	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. miR-124	35
4.2. miR-125b	36
4.3. miR-339	36
4.4. miR-206	37
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR	42
HAM VERİLER	53
FORMLAR	55
ETİK KURUL KARARI	57
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Kandaki etanol konsantrasyona bağlı fizyolojik değişimler (23).....	4
Tablo 2: Reverse transkripsiyon reaksiyon bileşenleri	32
Tablo 3: olgun miRNA için miScript SYBR Green kit karışımı (96'lık plaka).....	32
Tablo 4: real-time PCR döngü koşulları	33
Tablo 5: miR-124'ün deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi	35
Tablo 6: miR-125b'nin deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi	36
Tablo 7: miR-339'un deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi	37
Tablo 8: miR-206'nın deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: ALDH2 polimorfizminin kandaki asetaldehit konsantrasyonuna zamanla etkisi (26).....	6
Şekil 2: ALDH2 polimorfizm çeşidine göre kalp hızında alkol alımından sonra gözlenen değişim (26).....	7
Şekil 3: Gelişmiş canlılarda beynin genel olarak bölgelerinin isimlendirilmesi (37)....	11
Şekil 4: Beynin bölümleri: Temporal Lob, Oksipital Lob, Frontal Lob, Pariyetal Lob, Duyu korteksi ve Motor Korteks (34).....	12
Şekil 5: miRNA mekanizması (39).....	14
Şekil 6: miR-124 DNMT proteinlerini hedef alarak çeşitli hücre fonksiyonunu düzenlemede görev almaktadır (48).	16
Şekil 7: CREB1'i aktive eden yollar (57).....	18
Şekil 8: ADMSC'lerin nöron benzeri hücrelere dönüşmesine miR-124'ün etkisi (65)...	19
Şekil 9: Hem miR-9 hem de miR-124 Rap2a inhibe ederek dolaylı yoldan nöronal düzenlemede görev alır (67)	21
Şekil 10: NUR77 geninin miR-124 azalmasıyla kanser oluşumuna etkisi (72)	22
Şekil 11: Transkripsiyon faktörlerinin STRING veritabanı ile oluşturulmuş protein-protein etkileşimini gösteren ağı ve bu proteinleri hedef alan 3 miRNA'nın gösterimi (73).....	23
Şekil 12: REST/CoREST/Ctsp1/Ptbp1 yolağına miR-124'ün etkisi (74).....	24
Şekil 13: BAK1 dolaylı yoldan kaspaz1 ve kaspaz7 mekanizmasını aktif hale getirerek hücreyi apoptoza sürükler (91).	26
Şekil 14: μ -opioid reseptörünün yapısı ve ilişkili olduğu moleküller (101).....	28
Şekil 15: miR-124, -125b, -206 ve -339 seviyelerinin erkek bireylerde frontal korteks anlatım seviyelerindeki değişimin istatistiksel sonucunun doğrusal grafiği	34
Şekil 16: miR-124, -125b, -206 ve -339 seviyelerinin erkek bireylerin frontal kortekste anlatım seviyelerindeki değişimin istatistiksel sonucunun sütun grafiği.....	35

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

miRNA: mikro-RNA

ADH: Alkol dehidrogenaz

ALDH: aldehit dehidrogenaz

GABA: Gamma-aminobütirik asit

NMDA: N-metil-D-aspartat

MAPK: Mitogen activated protein kinase

NFkB:Nuclear factor kB

CREB : cAMP response element binding

cAMP : Cyclic Adenosine Monophosphate

CYP2E1: Sitokrom p450 2E1

NAD:Nikotinamid adenin dinükleotit

NADPH:Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

MSS:Merkezi sinir sistemi

AMPA: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit

CB1: Cannaboid reseptor 1

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

BDNF : Brain Derived Neurotropic Factor

RISC: RNA induced silencing complex

UTR : Untranslated Region

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription

ROCK: Rho Associated Coiled-Coil Containing Protein Kinase

PTBP1: Polypyrimidine Tract Binding Protein 1

DLX: Distal-Less Homeobox
TDO: Tricho-Dento-Osseous
AHR: Aril-hidrokarbon reseptör
CH: Crohn Hastalığı
CDK4: Cyclin Dependent Kinase
DNMT: DNA metil transferaz
MGMT: O-6-metilguanin-DNA metiltransferaz
CDH: Cadherin
FGFR1: Fibroblast büyüme faktör reseptörü-1
JAG1: Jagged-1
VEGF: Vasküler endotel büyüme faktörü
CREs: cAMP yanıt elementleri(cAMP response elements)
TLE: Temporal Lob Epilepsi
MOR: μ Opioid Reseptor
BCL-6: B-Cell Lymphoma 6
APP: Amiloid- β Precursor Protein
BACE1: β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1
TCF4: Transkripsiyon faktör 4
DC: Dentritik Hücre (Dendritic cell)
GTPaz: Guanozin Trifosfataz
DNM2: dynamin2
JEV: Japon beyin iltihabı virüsü
AH: Alzheimer Hastalığı
IKK- β : I κ B Kinase β
IKK- ϵ : I κ B Kinase ϵ
RT: Reverse Transcriptase

cDNA: Complementary Deoksiribonucleic Acid

PCR: Polimerase Chain Reaction

AMPA: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor

NMDAR: NMDA reseptörü

CCH: Kronik serebral hipoperfüzyon

PI3K: Phosphoinositide 3-kinase

RhoA: Ras homolog A

RhoG: Ras homolog Growth-related

ADMSC: Adipose-derived mesenchymal stromal cells

OSBP: Oksisterol-baglanma proteini

TGF- β : Transforming growth factor- β

RAC1: Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1

SOS1: Son of sevenless 1

NR4A: Nükleer reseptör 4 A

KLF6: Krüppel-like factor 6

BAK1: Bcl-2 antagonist killer 1

STARD13: StAR-related lipid transfer domain protein 13

MAP2K7: Mitogen-activated protein kinase kinase 7

MKK7: MAP kinaz kinaz 7

MKK4: MAP kinaz kinaz 4

EMT: Epitel-mezenkimal transisyonu

EOC: Epitel ovaryum kanseri

HAT: Histon asetilaz

MMP-9: Matriks metalloproteinaz 9

CML: Kronik miyeloid lösemi

Cx: Connexin

NACC1: Nucleus Accumbens Associated 1

PRL-1: Phosphatases of regenerating liver-1

MDM2: Mouse Double Minute 2



ÖZET

ERDOĞAN B. Alkol Bağımlılığının İnsan Beyin Dokusundaki miR-124,125b,206 ve 339-5p Ekspresyonları Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2016.

Alkol, dünya genelinde en yaygın bağımlılık yapan ve sağlık yönünden risk oluşturan maddedir. Alkol ile miRNA'lar arasında ilişkiler tespit edilmiştir. Özellikle beyinde hem kısa hem de uzun vadeli sorunlar teşkil edebilen alkol kullanım bozukluğunun beyinde çeşitli miRNA anlatım seviyelerini değiştirebildiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda alkol kullanım bozukluğu olan ve kontrol grubu olan erkek bireylerin frontal kortekslerinden total RNA izolasyonu yapıldı. Daha sonra miR-124, 125b, 206 ve 339-5p'nin anlatım seviyeleri real-time PCR ile analiz edildi. Son olarak “sabiosciences QIAGEN” web portalında PCR data analizi istatistiksel hesaplamaları yapıldı.

Analiz sonucunda miR-124, 125b ve 399 anlatım seviyeleri alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıktı. Bu da alkol kullanım bozukluğunun miRNA seviyesini değiştirerek Alzheimer Hastalığı, glioblastoma ve epilepsi gibi rahatsızlıklara yol açabileceğini göstermektedir. Ancak kas hücrelerinde anlatım seviyesi fazla olan miR-206 beyin frontal korteks bölgesinde düşük anlatım göstermektedir. Bu nedenle deney grubunda anlatım daha az olsa da deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler : miR-124, miR-125b, miR-206, miR-339, alkolizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 51136

ABSTRACT

ERDOĞAN B. Effects of alcohol addiction on miR-124, 125b, 206 and 339-5p expressions in human brain tissue. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Master's Thesis. İstanbul. 2006.

Alcohol is the most widespread addictive substance and promotes many health risks. An association between alcohol and miRNAs has been previously determined. It has been shown via *in vitro* and *in vivo* studies that both long-term and short-term alcohol abuse alter the expression levels of miRNAs in brain.

In our study, the expression levels of miR-124, 125b, 206 and 339-5p were determined by RT-PCR from total RNA samples isolated from the frontal cortex of addicted and healthy subjects. Lastly the data obtained from RT-PCR analyzes were used for statistical analyzes via an online software on “sabiosciences QIAGEN” website.

These analyzes have shown that miR-124, 125b and 399 are significantly downregulated in alcohol addicted subjects. These findings indicate that alcohol abuse can result in the deregulation of certain miRNAs which can lead to the development of certain diseases such as Alzheimer's Disease, glioblastoma and epilepsy. In addition to that the expression levels of miR-206, which is highly expressed in muscle tissues, were found to be downregulated in frontal cortex area of study subjects. Because of this, despite showing lower expression in the samples from addicted brains in comparison to healthy individuals, the difference in expression was not statistically significant.

Key Words: miR-124, miR-125b, miR-206, miR-339, alcoholism

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 51136

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alkol kullanım bozukluğu kadınlarda da erkeklerde de görülen çevresel faktörlerin de etkili olduğu hem genetik (1) hem de epigenetik bir hastalık (1,2) olup global düzeyde yılda 2,5 milyon insanın ölümünden sorumludur (3). Monozigotik ikizlerin alkol kullanım bozukluğuna olan uyumlarının dizigotik ikizlerden daha fazla olması (4) da kullanım bozukluğun temelinde genetik faktörlerin rol aldığını göstermektedir. Bir genin farklı fenotipindeki bireylerin alkol ilişkili davranışlarda benzerlik göstermeleri de birden fazla genin kullanım bozukluğunu etkileyebileceğini göstermektedir (1).

Alkol dehidrojenaz (ADH) enzimi ile metabolize edilerek toksik bir ara metabolit olan asetaldehit; aldehit dehidrojenaz (ALDH) ile de asetat formuna dönüştürülen etanol, bağımlılık yapan bir madde olup beyindeki bazı genlerin anlatımını etkileyerek insan beynindeki moleküler mekanizmaları değiştirir. İlerleyen yaşlarda bağımlılık sonucu beynin beyaz maddesinde azalması ve gri bölgede ise önemli nöronal aktivite kayıpları gözlenmiştir (3). Bağımlılık durumunda beyinde meydana gelen kompleks değişikliklerin aydınlatılmasında, beynin farklı bölgelerinde ve belli zaman aralıklarında ortaya çıkan gen anlatımlarının ve genler arası etkileşimlerin bilinmesi gerekmektedir.

Alkol ve diğer uyarıcı maddeler birincil olarak dopamin salınımını artırır (1). Alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin serotonin reseptörüne (5-HT₃) karşı duyarlılıkları artmaktadır (5). Ayrıca Gamma-aminobütirik asit (GABA), glutamat, dopaminerjik, opioid peptid nörotransmitterlerinin de alkol kullanım bozukluğuna bağlı olarak arttıkları bilinmektedir (6). Bunlarla beraber, özellikle nöron hücrelerinin sinaps bölgesinde yer alan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörüne antagonist uygulaması (7) ve farede D2 dopamin reseptörünün baskılanması(8) sonucunda alkole olan ilgi azalmıştır. Ayrıca Protein Fosfataz C, neuropeptid Y, mitojen aktifleştirilmiş protein kinaz (MAPK), Nucleer factör kB (NFkB), CREB (cAMP response element binding), CB1 (cannaboid reseptor) moleküllerini de kapsayan 48 genin alkol kullanım bozukluğu ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (9).

mikroRNA (miRNA)'lar, transkripsiyon ürünü mRNA'yı bloke ederek gen anlatımını translasyon aşamasında durdururlar. Günümüzde, insan genomunda 1600 civarında miRNA keşfedilmiş olup bu miRNA'lar, tüm genomdaki genlerin üçte birini kontrol ettiği varsayılmaktadır. Bu nedenle sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza da

dâhil olmak üzere birçok hücrel fonksiyonu kontrolünde rol almaktadır (10,11). *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar göstermektedir ki, bazı miRNA'ların anlatımları alkol etkisiyle değişmektedir (3,12–14).

Hedeflerinden biri, hem sinaptik plastisitede hem de uzun süreli nöronal bağlantılarda görev alan BDNF (brain derived neurotropic factor) olan miRNA-206 alkol verilen farelerde (15) ve nörodejeneratif hastalık olan Alzeihmer Hastalığı (AH)'nda aşırı anlatım göstermektedir (16). Biyoinformatik çalışmalarda, miR-206'nın, BDNF 3'UTR bölgesinde üç adet korunmuş bağlanma bölgesi olduğu da tespit edilmiştir (15).

miR-124 ise CREB'i baskılayarak kısa süreli ve uzun süreli sinaptik rahatlamaları dengelemektedir. miR-124 azalmasıyla CREB artışı, buna bağlı olarak da seratonin duyarlılığı artar ve uzun süreli sinaptik rahatlama artar (11). *Aplysia californica*'nın beyinde miR-124 en korunmuş ve en bol bulunan miRNA olarak gözlenmiştir (11).

NMDA reseptörü (NMDAR) tetramerik transmembran bir protein olup en az 7 alt birimi bulunmaktadır. NR1, NR2A ve B, NR3A ve B bilinen alt birimlerdir. NR1 glisin bağlanma bölgesini bulundururken, NR2 alt birimi santral sinir sisteminde öğrenme, hafıza gibi beyin fonksiyonlarında etkili glutamat nörotransmitterinin bağlanma bölgesini içermektedir (17). NR1, tüm NMDA reseptörlerinde 2 adet yer alırken, genelde diğer iki alt birim NR2 iken, ancak nadiren NR3 bulunur. Kash ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada alkolün NR2 altbirimlerden NR2A'da etkili olmadığı ancak NR2B'nin alkole duyarlı olduğu görülmektedir (18).

Bu çalışmanın amacı, daha önce alkole bağlı olarak fonksiyon veya gen anlatımı değişikliği gözlemlenen moleküllere etki eden bazı miRNA'ların alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde anlatım analizlerini yapmaktır. Bunun için beyin fonksiyonunda önem taşıyan 4 ayrı molekül temel alınmıştır. Öğrenme ve hafızada işlevsel olan NMDA reseptörünün glutamat bağlanma bölgesini içeren NR2B altbirimini hedef alan miR-125b (10), cAMP ile bağlantılı CREB'i hedef alan miR-124 (12), BDNF'yi hedef alan miR-206 (15) ve tümör süpresör gen ürünü olan p53 yolağını baskılayan (14) ve Parkinson hastalarında anlatımı azalan (19) miR-339-5b anlatım analizleri yapılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağımlılık(Kullanım Bozukluğu) Nedir?

Bağımlılık ya da kullanım bozukluğu iki yüzyıldır araştırma konusu olmakla birlikte en son “beynin medikal tedavi gerektiren arzu hastalığı” olarak tanımlanmaktadır (20) ve insana psikolojik olarak “bağımlı olduğu maddeyi kullanmadan yaşamsal faaliyetlerini yerine getiremeyeceği” hissini verir (21). Bağımlı olmanın temelinde aşırı özgüvene dayalı istediği zaman bırakabilme inancı yatmaktadır. İnsanların hepsinin bağımlı olmamasında ise biyolojik yapıları, aile ve arkadaşlarından oluşan çevreler ve gelişim süreci rol almaktadır (22).

2.2. Alkol ve Alkol Kullanım Bozukluğu

2.2.1. Alkol Metabolizması

Alınan etanolün %90'ı metabolize edilirken %10'u ter, nefes ve idrar yoluyla vücuttan doğrudan atılır. Mide ve bağırsakta emilimi yapılan etanol eğer yiyeceklerle birlikte alınırsa emilim süresi uzar ve verdiği zarar azalır (23,24). Çeşitli yollarla metabolize edilen etanolde en çok kullanılan yol ADH ile asetaldehide; asetaldehit de ALDH ile toksik olmayan asetik aside dönüştürmedir. Daha sonra CO₂ ve suya dönüştürülür (25).

Kadınların vücut su yüzdesi erkeklerden daha az olduğundan alkol daha az çözünür dolayısı ile kandaki alkol yüzdesi daha fazla olur. Ayrıca kadınların ADH seviyesi erkeklerden daha düşük olduğundan mensturasyon döngüsünün luteal fazı dışında etanolü metabolize etme hızı daha düşüktür (23).

Alkol metabolize etme hızı cinsiyete bağlı olduğu gibi yaşa bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Yaş ile ters orantılı olarak etanol metabolizması gerilemektedir (23).

İnsan vücudundaki alkol miktarı Windmark formülü ile hesaplanmaktadır:

$$A = C \times W \times r$$

A: Tüketilen alkol miktarı (gr)

C: Kandaki alkol konsantrasyonu (gr/L)

W: Kişinin vücut ağırlığı (kg)

r: Formül sabiti (kadınlarda 0,6 – erkeklerde 0,7) (23).

Kandaki alkol konsantrasyonu kişinin fizyolojisinde değişimlere yol açmaktadır (Tablo 1). Bu konsantrasyonun artması bireyin ölümüne dahi sebep olabilmektedir (23).

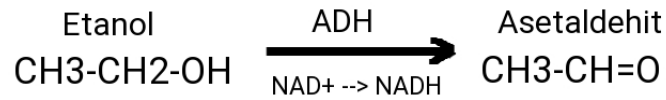
Tablo 1: Kandaki etanol konsantrasyona bağlı fizyolojik değişimler (23)

Kandaki Alkol Konsantrasyonu (%)	Fizyolojik değişim
0,05	Rahatlama
0,1	Coşku, idrak kabiliyetinde azalma
0,2	Ağrı eşiği değişimi, çekingenlik kaybı, idrak kaybı, görmede rahatsızlıklar
0,3	Aşırı ısı (hipertermi), solunum depresyonu
0,4	Kendinden geçme, komaya girme
0,5	Potansiyel ölüm tehlikesi

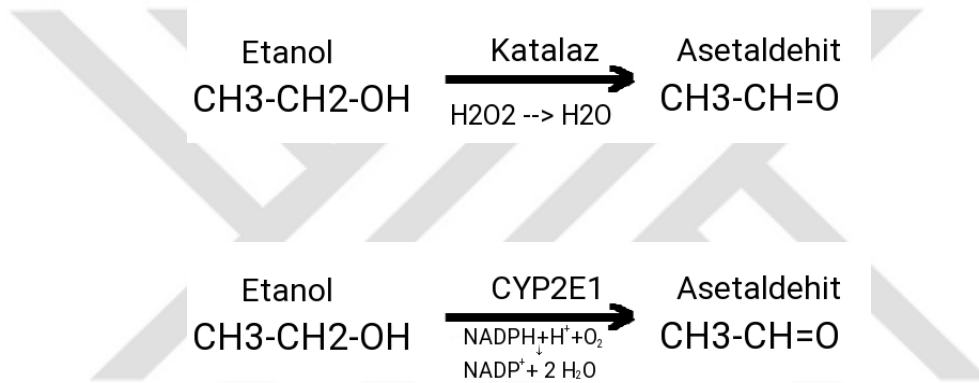
Alkol alımından kısa bir süre sonra beyinde bulunan alkol miktarı toplardamardakinden daha fazla hale gelir (24).

Etanolü okside eden 3 enzim bilinmektedir: ADH, katalaz ve sitokrom P450 2E1 (CYP2E1). Katalaz genel olarak hidrojen peroksit ile toksik bileşikleri okside eder. CPY2E1 özellikle ağır alkol içenlerde yaklaşık 10 kat fazla bulunur ve iki farklı alleli bulunmaktadır (c1 ve c2) (24).

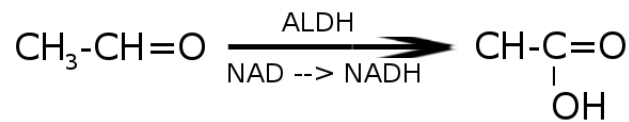
ADH, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) bağımlı, çinko içeren alkol metabolizmasında hızı belirleyen dimerik bir enzimdir. ADH ailesinin üyeleri kinetik yapılarına göre 5 sınıfa ayrılır. Sınıf I en düşük kinetiğe sahiptir ve α -, β -, ve γ -altbirimleri vardır. Sınıf II ($\pi\pi$) ve Sınıf IV ($\mu\mu$) orta derecede kinetiğe sahiptir. Sınıf III ($\chi\chi$) ise etanol ile doygunluğa ulaşmayacak derecede yüksek kinetiğe sahiptir (26). ADH sınıf I-III karaciğerde, sınıf IV midede bulunmaktadır (24). ADH etanolü okside ederek asetaldehide çevirir (26).



Etanol oksidasyonunda ADH sitozolde görev alırken peroksizomlarda katalaz görev almaktadır. Katalaz, hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanarak etanolü okside ederken, sitokrom P450 ailesinin üyesi olan CYP2E1 ise mikrozomlarda etanolün nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), H⁺ ve O₂ moleküllerinin yardımı ile asetaldehide okside edilmesinden sorumludur.

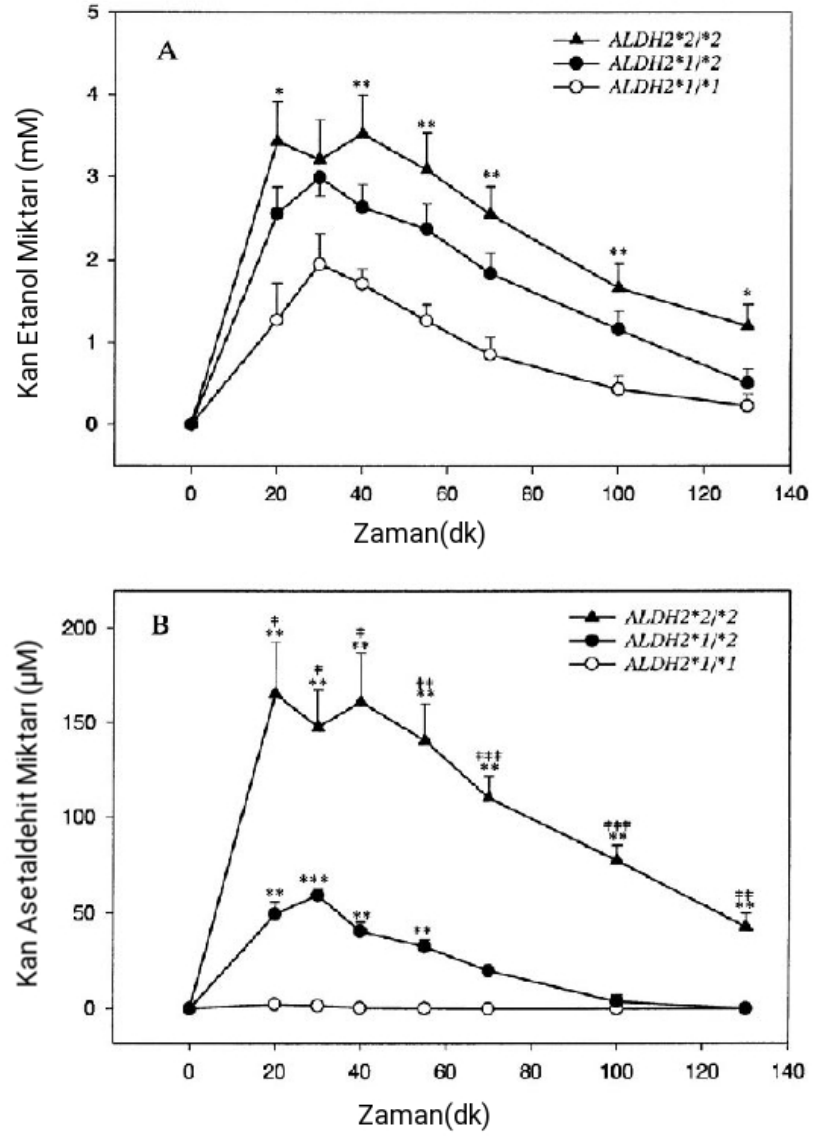


Asetaldehit toksisitesi yüksek bir ara metabolittir. Etanol ve asetattan daha toksiktir. Eğer hızlı bir şekilde asetata çevrilmez ise kan akışının yüz, boyun, deri gibi yüzeysel bölgelere hızlı akışına, kalp ritminin artmasına, bulantı, beklenmedik uyuşukluk ve baş dönmesi gibi etkilere sebep olmaktadır (23). ALDH asetaldehit molekülünü asetik aside çevirerek toksisitesini ortan kaldırmış olur.



Oldukça geniş substrat özgünlüğü gösteren ALDH ailesinin üyeleri mitokondrial olan ALDH2 ve sitozolik olan ALDH1 karaciğerde asetaldehidin oksidasyonundan sorumlu ana elemanlardır. ALDH2, kinetik etkisinin ALDH1'den yaklaşık 160 kat daha fazla olduğundan dolayı, etanol metabolizmasında baskın role sahiptir. Düşük

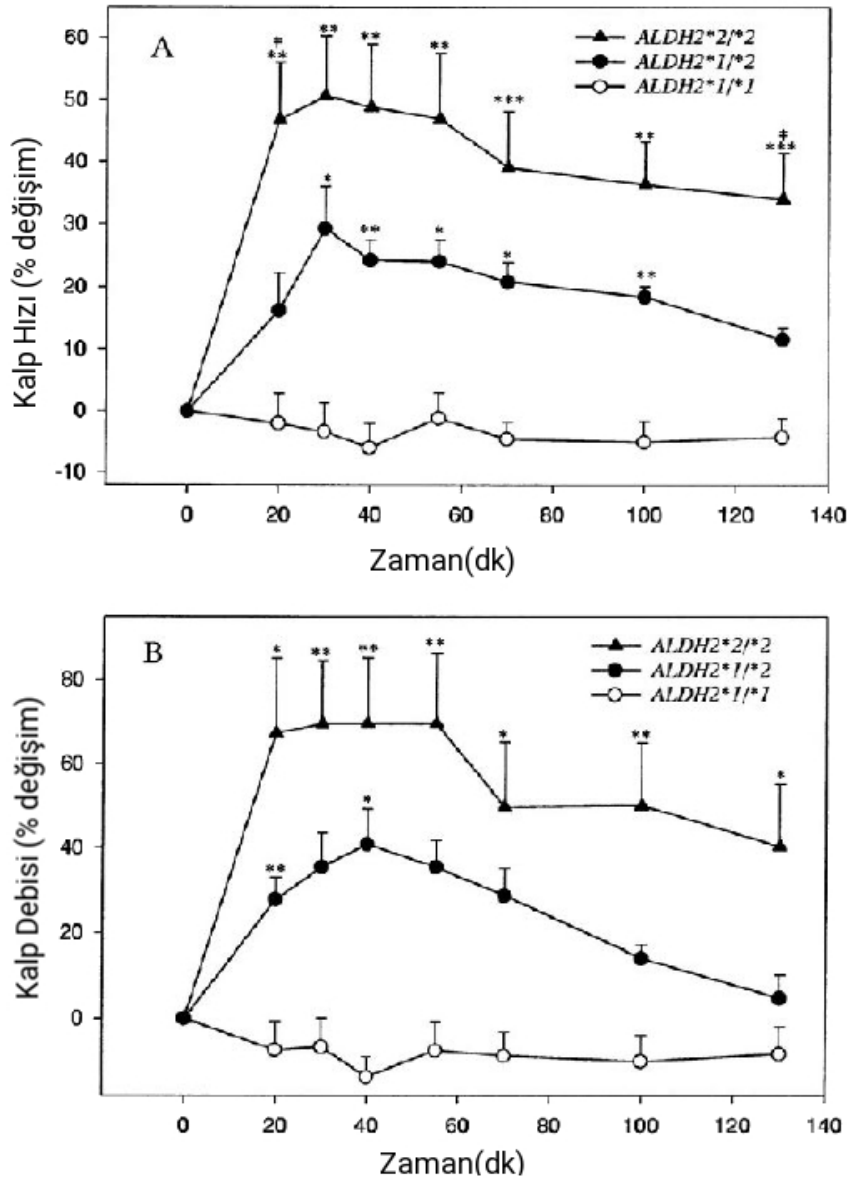
asetaldehit konsantrasyonunda da etki gösterebilmektedir (26). ALDH2 polimorfizmleri alkolün asetaldehit konsantrasyonunda önemli farklılıklar gösterebilir (Şekil 1) (26).



Şekil 1: ALDH2 polimorfizminin kandaki asetaldehit konsantrasyonuna zamanla etkisi (26)

Ayrıca alkol alımından sonra 30 dakika içerisinde kalp atış hızında ve kalp debisinde artışta da ADLH2 polimorfizmine göre değişkenlik olabilmektedir (Şekil 2).

Yine polimorfizm türüne göre bireylerin alkol eğilimleri değişiklik göstermektedir. ALDH2*1 polimorfizmi ALDH2*2 polimorfizminden daha fazla alkol eğilimine sebep olmaktadır. Bunun yanında alkolik bireylerin ADH2*2, ADH3*1 ve ALDH2*2 frekanslarında normal bireylere göre azalma görülmektedir (26).



Şekil 2: ALDH2 polimorfizm çeşidine göre kalp hızında alkol alımından sonra gözlenen değişim (26)

2.2.2. Kullanım Bozukluğu

Alkolizm ya da alkol kullanım bozukluğu bir hastalıktır. Alkolizmin aşırı arzulama, içme isteğinin kontrolden çıkması; dengesizlik, yersiz terleme, yoksunlukta asabiyet

gibi fiziksel bağımlılık, her seferinde daha fazla içme toleransı belirtileri bulunmaktadır (22).

Amerika Psikiyatri Kuruluşu'na göre bağımlılık 7 kritere göre değerlendirilir ve birey bunlardan en az üçünü bir yıl içerisinde gösterirse bağımlı olarak kabul edilir (Diagnostic and Statistical Manual-IV-R (DSM-IV-R)).

Bu 7 kriter: tolerans, uzaklaşmama, alkol alımında kontrol kaybı, bırakma arzusunun rağmen bırakamama, zihnin alkol alımı ile aşırı meşguliyeti, diğer aktivitelere ayrılan zamanın azalması, medikal ve sosyal tedavi yöntemlerine rağmen alkol tüketiminde ısrar olarak belirlenmiştir (27).

Hem çevre hem de genetik faktörlerin etkili olabildiği alkolizmin tedavi yöntemlerinin varlığı ve birçok kişide bu tedavilerin etkili olması sonucu alkolik bireyler alkol kullanımından uzaklaşabilmektedir. Ancak bu uzaklaşma alkolizmin tamamen iyileştirilebilir hastalık olduğunu göstermemektedir. Birey alkolik olma açısından daha önce kullanım bozukluğu yaşamamış bireylere oranla daha yüksek ihtimal taşımaktadır. Bu da alkol kullanım bozukluğunun henüz kesin iyileşmesine yönelik bir tedavi yöntemi olmadığını göstermektedir (22).

Alkol kullanım bozukluğu etnik topluluğa, cinsiyete ve yaşa göre değişmektedir. Örneğin erkekler kadınlara göre daha çok bağımlı olma eğilimindedir. Ayrıca erken yaşta alkolle tanışan bireylerin de diğerlerine oranla bağımlı olma ihtimalleri yüksektir (22).

Her ne kadar erkekler kadınlardan daha çok alkole bağımlı olma eğilimi gösterseler de yapılan araştırmalar kadınların alkole erkeklerden daha duyarlı olduklarını ve dolayısıyla bağımlı olma risklerinin daha fazla olduklarını göstermektedir. Bunu nedeni ise kadınların ortalama vücut ağırlıklarının ve dolayısı ile vücuttaki su miktarının erkeklere oranla daha az olmasıdır (22).

Alkolizm, beynin kontrolünün kaybolmasıyla ölümcül yaralanmalara, kazalara, cinsel saldırılara yol açmaktadır. Ayrıca psikolojik ve fizyolojik sağlık problemlerinde de rol almaktadır. Alkol arzulama hastalığı olarak bilinen alkolizm ebeveynlerin çocuklarında doğum defektlerine de sebep olabilmektedir (22).

2.2.2.1. Sosyolojik etkileri

Alkol bağımlılığının başlama seviyelerinde çevresinden eleştiriler ve arkadaş çevresinde azalmalar görülmektedir (28). Farklı sebeplere de dayalı olsa alkolün saldırganlığı ve aile içi şiddeti arttırdığı bilinmektedir (22).

Üniversite yaşantısında sosyal fobinin alkol kullanma isteğinde etkili olmadığı aksine arkadaş çevresinin öğrencilerin alkol kullanma eğilimlerinde etkili olduğunu göstermektedir (29).

2.2.2.2. Sağlık Yönünden Etkileri

Etanolün taşımaya etkisi sinaptik uyarıyı doğrudan veya dolaylı olarak yavaşlattığı ve dolayısıyla beynin fonksiyonel ve davranışsal farklılıklar göstermesine neden olduğu en belirgin alkolizm sonucudur (30).

Alkol diğer bağımlılık yapan maddelerin aksine spesifik bir reseptöre bağlanmaz ve düşük alkol dozu merkezi sinir sistemi için önemli bir inhibitör nörotransmitter reseptör olan GABA aktivitesini artırırken yüksek dozdaki alkol azaltır (24).

NMDA reseptör anlatım seviyesi etanole duyarlılık göstermekle birlikte, bu duyarlılık merkezi sinir sisteminde (MSS) homojenlik göstermemektedir. NR1 glisin bağlanma bölgesi içerirken, NR2 alt birim glutamat bağlanma bölgesi içerir. Etanol, NMDA'nın NR1/NR2A ve NR1/NR2B kompleksini NR1/NR2C kompleksine oranla daha fazla inhibe etmektedir. TM3 altbirimindeki fenilalanin kalıntısının NMDA ve non-NMDA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit (AMPA)) reseptörlerinde ortak olmasından dolayı alkol için hedef olabileceğini düşündürmektedir (31).

Kısa Vadeli Etkiler

Alkol kullanımının kısa sürede etki gösterdiği sağlık problemleri:

1. Düşünme ve hızlı karar verme yeteneğinin kaybolmasına bağlı olarak kazalar, yaralanma ve ölümler
2. Baş ağrısı
3. Damar genişlemesine bağlı yüzde kızarıklık ve şişkinlikler
4. Koku alma duyusunun kaybolması, burun kanamaları
5. Oral kuruluk ve enfeksiyonları, diş eti kanamaları, tat alamama

6. Öksürüğe dayalı ses deformasyonları olarak görülmektedir (32).

Uzun Vadeli Etkiler

Uzun vadeli alkol kullanan bireylerde, beyinde deformasyon ve atropi; karaciğerde yağlanma, alkolik karaciğer iltihaplanması, siroz; kardiyovasküler sistemde, kardiyomyopati, yüksek kan basıncı, kalp ritim bozukluğu, ani kalp durması; sinir sisteminde, doğrudan zehirlenme veya alkol ilişkili besin yetersizliğine bağlı fonksiyon kaybı, çeşitli hassasiyetlerin oluşması (kol ve bacak ağrıları, kramplar, ısı duyarlılığı, idrar problemleri gibi); akciğerde yaralanmalar ve kemiklerde osteoporoz ve osteonekroz rahatsızlıkları oluşabilmektedir (33).

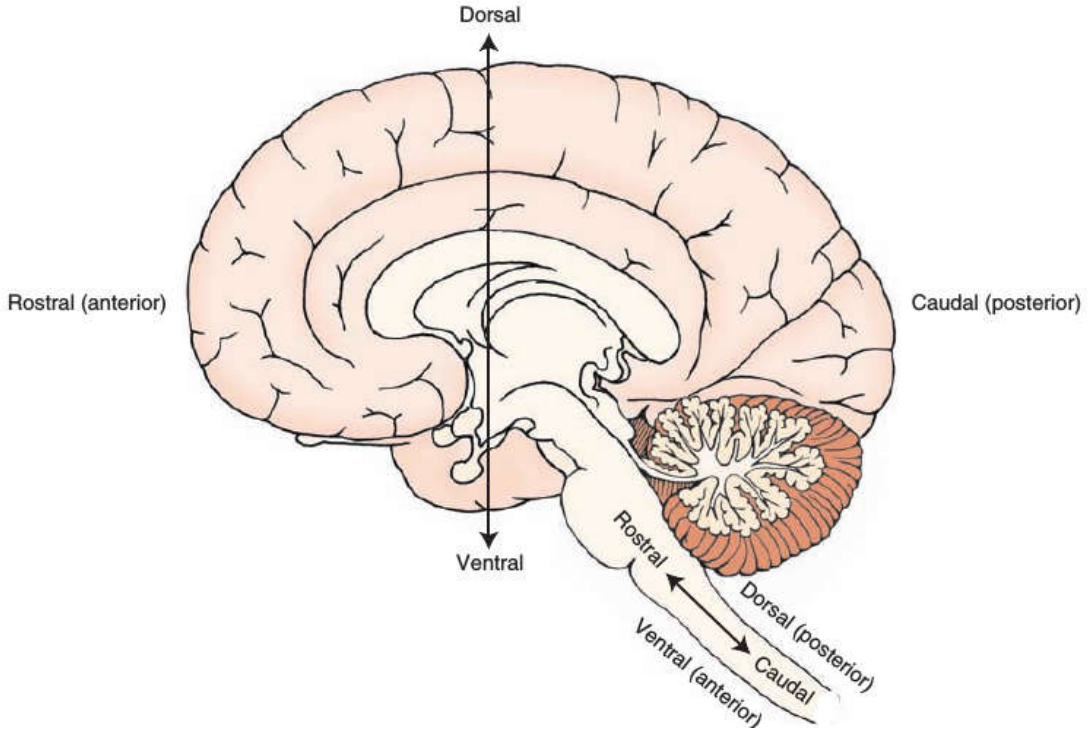
2.3. Beyin

Ektoderm tabakasından gelişen ve mezoderm tabakasının salgıladığı sinyallere yanıt veren (34) beyin yaklaşık 600 milyon yıl önce yer yüzünde görülmeye başladı (35) ve günümüzde evrendeki en kompleks organizasyon olarak bilinmektedir. Birbirlerine bağlı, organizmaya göre değişiklik gösteren 10^9 - 10^{12} nörondan oluşmaktadır (34).

İnsan beyni 300-500 milyar nöron bulundurur. Nöronlar diğer vücut hücrelerinden daha fazla protein üretirler. Akson ve dentrit adı verilen nöritler içerirler. Dentritler bir nöronda birden fazla bulunabilen ve kendi proteinini sentezleyebilen yapı iken akson hücre başına bir tane bulunur ve gerekli duyduğu moleküller nöronda sentezlenip taşınır. Akson ve dentritler sinapslar ile birbirine bağlıdır. Bu bölgede aksondan dentrite doğru sinyal akışı olur (36).

Beyin organizasyonu iki farklı başlık altında incelenir. Türler arası değişiklik gösteren bütünsel anatomiye içeren makro devreparçaları ve aynı türün bireylerini birbirinden ayıran genetik ve çevresel faktörlere göre değişim gösteren mikro devre parçalarıdır. Periferik sinir sisteminin aksine merkezi sinir sisteminde meydana gelen hasarın veya nöron ölümlerinin tamiri, rejenerasyonu tam anlamıyla eski haline gelmesi için yeterli olmamaktadır. Bunun altında da akson-dentrit oluşumlarının kompleks olması yatar (35).

Gelişmiş canlıların beyinlerinin üst kısmı dorsal alt kısmı ventral olarak; ön kısmı rostral ya anterior arka kısmı ise kaudal veya posterior (Şekil 3) olarak adlandırılır (37).



Şekil 3: Gelişmiş canlılarda beynin genel olarak bölgelerinin isimlendirilmesi (37)

2.3.1. Beynin bölümleri:

Beyin 4 ana bölgeye ayrılır: Frontal Lob, Parietal Lob, Oksipital Lob, Temporal Lob (Şekil 4). Her bir lob farklı fonksiyonda görev almaktadır. Beynin genel olarak davranış, duyu algılama, hafıza, öğrenme, konuşma, tanıma, düşünme, duygusal yaklaşımlar, hormon salgılaması için emir gönderme gibi pek çok istemli veya istemsiz fonksiyonu vardır (37).

Her bir lobu ayrı değerlendirmek gerekirse;

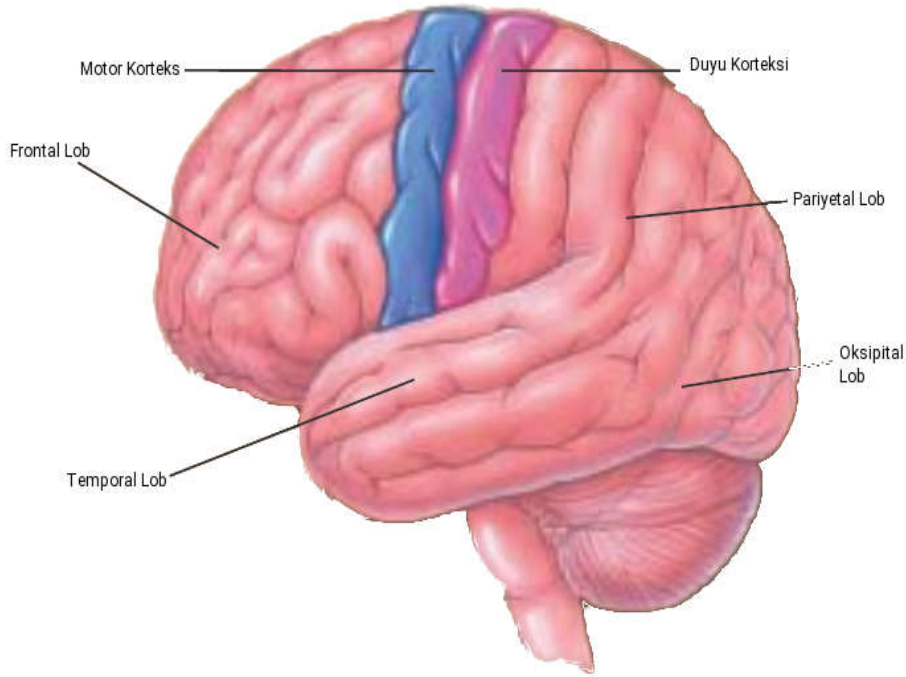
Frontal Lob: Beynin ön kısmında yer alır ve anterior bölgenin geniş bir kısmını oluşturur. Kasları aktif hale getirebilen motor nöronlara kadar uzanabilen aksonları bulunur(34). Yönelimsel işlevleri olan bu bölge, soyut düşünmeyi, karar vermeyi, ileriye yönelik düşünceleri, dikkat toplama ve davranışları yönetir. kısa süreli hafıza, dil ve hareketle de ilgilidir(38).

Parietal Lob: Oksipital lob ile sınırı belli olmamakla beraber beyin dorsal bölgesinden posterior bölgesine kadar uzanmaktadır ve duyu organlarına gelen uyarıları

kabul eden nöronları içerir (39). Vücudun çeşitli yerlerinden gelen (duyu organları da dahil) uyarıları değerlendirip harekete çeviren bölgedir (38).

Temporal Lob: Görsel ve işitsel bilgileri birleştiren bu bölge dile benzer bir yapı şeklinde pariyetal ve oksipital loblar arasından anterior bölgeye doğru uzanır (39). Sesleri işlemenin yanında dil ve hafızaya yönelik özel bölgeler içerir. Ruh hali, iştah, uyku ve öğrenme ile ilişkilidir (38).

Oksipital Lob: Posterior bölgenin en uç kısmına kadar giden bu bölgenin pariyetal lob ile sınırı tam olarak bilinmemektedir (39). Beynin gözlerden gelen veriyi işleme üzerine çok sayıda özelleşmiş bölge içeren lobdur (38).



Şekil 4: Beynin bölümleri: Temporal Lob, Oksipital Lob, Frontal Lob, Pariyetal Lob, Duyu korteksi ve Motor Korteksi (34)

Beyin bir bariyer ile korunmaktadır. Bu bariyerden penisilin ve bir çok ilaç geçememektedir. Ancak alkol, nikotin, kafein, depresyon tedavisinde kullanılan ilaçlar bu bariyeri geçebilmektedir. Alkol GABA üzerinde inhibitör etkisi göstererek nöronların nörotransmitter maddeleri salgılamasını yavaşlatır. Buna bağlı olarak da dopamin seviyesinde artış meydana gelir. Beynin alkolden en çok etkilenen bölgesi ise prefrontal bölgedir (23).

Beynin alkole gösterdiği tepki cinsiyete göre değişmektedir. Kadınlar erkeklere oranla daha fazla tepki göstermektedir. Ancak her iki cinsiyette de prefrontal kortekste azalmaya yol açmaktadır (40).

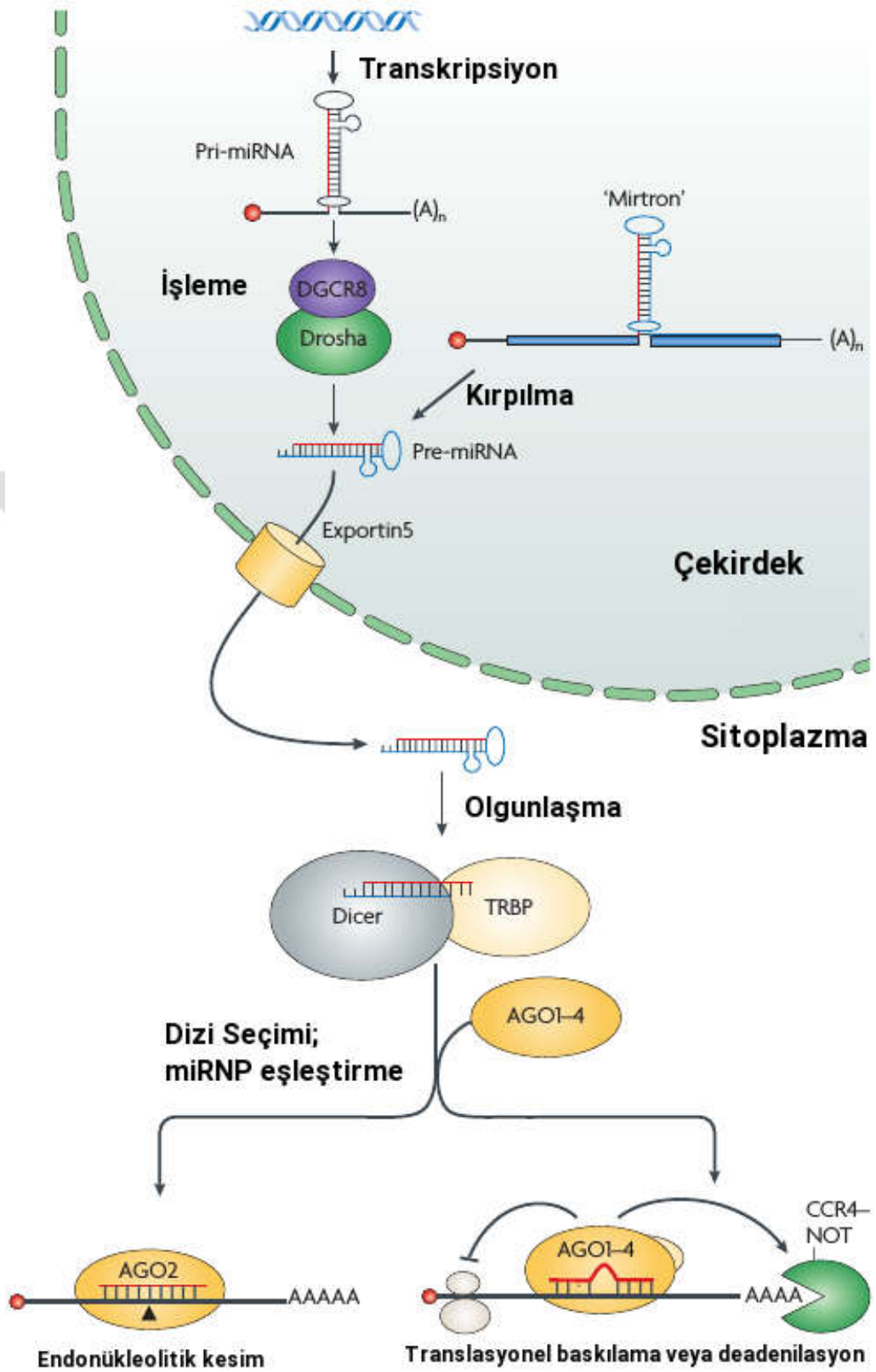
Kronik alkol kullanımı iki önemli rahatsızlığa yol açmaktadır: Korsakoff sendromu ve alkolik bunama. Korsakoff sendromu B1 vitamin eksikliğine bağlı ortaya çıkan bir beyin hastalığıdır. Bu hastalığa sahip olan bireylerde sezgi ve tartışma kabiliyeti azalır, hafıza kaybı ve yanlış hafıza sorunları görülür, duygusuzluk meydana gelir. Gri maddenin önemli bölgelerinde mikro-kanamalar ve nöron kayıpları ortak sorundur (23).

2.4. miRNA nedir?

miRNA'lar, kodlama yapmayan (non-coding) RNA'lar sınıfına giren olgunlaşmış hali 18-25 nükleotidlik uzunluğa sahip kısa dizilerdir. Görevleri mRNA dizisine tutunarak translasyonu durdurma ve mRNA'nın tamamlayıcı spesifik bölgesiyle ikili zincir oluşturur. Genelde 3'UTR bölgesine bağlanan bu yapı iki farklı sonuca yol açabilir. Eğer miRNA-mRNA dizi eşleşmeleri mükemmel ise mRNA kesilir ve yıkıma gider. Protein ihtiyacı durumunda yeniden mRNA sentezi gerekir. Bazen eşleşme tam olmaz 'seed' adı verilen 2-5 nükleotidlik eşleşme gösteren bölgeler bulunur. Böyle durumda sadece translasyon durur. Ancak mRNA yapısı bozulmaz (Şekil 5)(41).

Günümüzde, insan genomunda 1600 civarında miRNA keşfedilmiş olup bu miRNA'lar, tüm genomdaki genlerin üçte birini kontrol ettiği varsayılmaktadır. Bu nedenle sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza da dâhil olmak üzere birçok hücresel fonksiyonu kontrolünde rol almaktadır (10,11).

Bazı miRNA'lar doku spesifiktir. Bazıları da farklı dokularda tespit edilmiş olsa da bir dokuda diğer dokulardan daha fazla sentezlenmektedir. Örneğin; MiR-124 beyin spesifik bir miRNA iken miR-125b beyinde zenginleştirilmiş(42) miRNA'dır.



Şekil 5: miRNA mekanizması (39).

2.5. miR-124

miR-124 anlatımı merkezi sinir sisteminde diğer organlara göre yaklaşık 100 kat daha fazla yapılmaktadır (43) ve özellikle merkezi sinir sisteminde en çok çalışılmış miRNA'lardan biridir.

Ancak sadece sinir sisteminde değil diğer dokularda da meydana gelen anormal anlatım düzeyleri çeşitli hastalıklarda etkili olabilmektedir. DLX3 (Homeodomain gene Distal-less-3) kemik gelişiminde rol almakta ve aşırı kemik büyümesi olan Tricho-Dento-Osseous (TDO) sendromu ile yakından ilişkili olup miR-124 ile doğru orantılı olarak değişim göstermektedir. Bu nedenle DLX3'ün miR-124'ün anlatımını düzenlediği ve miR-124 seviyesinde azalmanın osteoklast adı verilen artan kemik yoğunluğunda sorumlu görülmüştür (44).

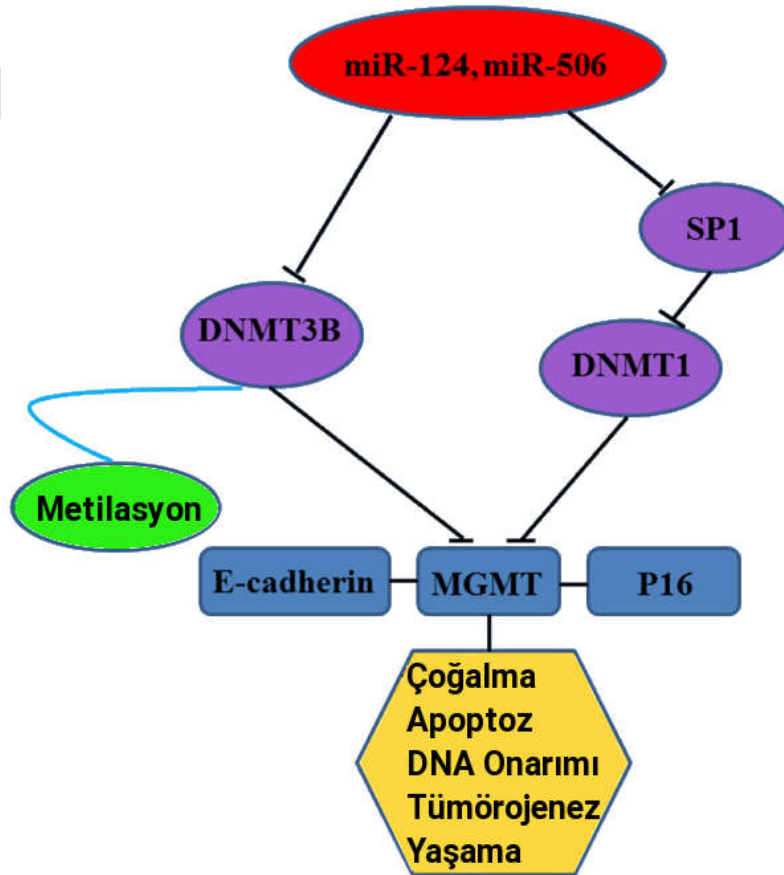
Aril-hidrokarbon reseptör (AHR) ligand ile indüklenen reseptör bir çok hücre tipinde evrimsel olarak oldukça korunmuş bir transkripsiyon faktörüdür ve pasif durumda bir şaperon komplekse bağlıdır. Ligand bağlanmasıyla aktiveleşen faktör şaperondan ayrılır ve çekirdek içine taşınır. Çekirdekte aril-hidrokarbon taşıyıcı ile dimer oluşturur ve ilgili geni promotörle beraber aktif hale getirir. Transkripsiyonel düzenleme sonrası AHR sitoplazmaya çıkartılır ve indirgenir. AHR bireyin çevresel etkilere karşı immün yanıtı için gereklidir ve immün dengeyi sağlar. Normal seviyede veya daha aşağısında aktive edilen bu reseptör vücudu çevresel saldırılara karşı korurken aşırı salgılanması immün dengenin bozulmasına inflamasyonun azalmasına yol açar. Th15 ve Treg hücrelerinin farklılaşmasında görev alan AHR otoimmün hastalıktan da sorumludur. AHR biyoinformatik çalışmalarda 3'UTR bölgesinde, miR-124 için korunmuş bir bölge içermektedir ve deneysel çalışmalar AHR ve miRNA seviyeleri arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir. AHR'nin anti-inflamatör etkisi miR-124 ile baskılanması sonucu pro-inflamatör sitokinler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 miktarlarında artış gözlenmektedir. Ancak inflamatör bağırsak hastalığı olan Crohn Hastalığı (CH)'nda miR-124 seviyesinin yüksek AHR'nin düşük olması gastrointestinal bölgelerde yaralanmalara yol açabilmektedir. Dolayısı ile kolonik miR-124 seviyesinin azalması CH için tedavi edici bir yöntem olarak düşünülmektedir (45).

Özafagus kanseri, miR-124 anlatım seviyesinin azaldığı kanser tiplerinden biridir ve miR-124'ün siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4)'ü doğrudan hedef alır. CDK4 hücre döngüsünde önemli bir proteindir. CDK4 hücre döngüsünde Retinoblastoma proteini

(Rb)ni fosforile ederek inaktive eder. CDK4 azalmasına yol açan miR-124 artışı özafagus kanserinde apoptozu arttırmaktadır (46).

CDK4 seviyesi meme kanserinde de etkili bir protein olup miR-124 seviyesinin düşük olmasına bağlı olarak artmaktadır. Dolayısı ile miR-124, CDK4'ün mRNA'sını düzenleyerek meme kanserinde kanser hücrelerinin yaşama, yayılma ve hücre döngülerini kontrol altına almaktadır (47).

Gen anlatım seviyesinin düzenlenmesi, X inaktivasyonu gibi bir çok hayati fonksiyonu etkileyen replikasyon sonrası modifikasyon olan DNA metilasyonunu DNA metil transferaz (DNMT)lar ile gerçekleştirilir. DNMT'lerden DNMT3B doğrudan, SP1 aracılığı ile DNMT1 dolaylı olarak miR-124'ün hedef molekülleridir. Kolon kanserinde ise miR-124 seviyesinde gerileme görülmektedir. miR-124 ve miR-506 DNMT3B ve DNMT1 moleküllerini baskılayarak tümör baskılayıcı genler olan E-cadherin, O-6-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) ve P16 genlerini aktifleştirir (Şekil 6) (48).



Şekil 6: miR-124 DNMT proteinlerini hedef alarak çeşitli hücre fonksiyonunu düzenlemede görev almaktadır (48).

Nöronal Cadherin (N-cadherin) olarak da bilinen Cadherin-2 (CDH2), bir çok biyolojik süreçte hücreler arası etkileşimde görev alan transmembran proteinler olan Ca^{+} bağımlı (49) cadherin protein ailesinin bir üyesidir ve birçok kanser tipinde aşırı anlatım seviyesi göstermektedir (50).

CDH2 geninin 3'UTR bölgesi miR-124'ün hedeflerinden biri olduğu biyoinformatik tahmin çalışmalarında tespit edilmiş olup akciğer kanserinde de miR-124/CDH2 oranının kontrole nispetle düşük olmasının etkili olduğu lusiferaz muhbir yöntemiyle gösterilmiştir (50).

Epitel cadherin olan CDH1 ile aralarında değişim gösterebilen CDH2, membranda sinyal ilişkili fibroblast büyüme faktör reseptörü-1 (FGFR1) aktivitesini artırır ve aşırı durumlarda kötü huylu tümöre öncülük eder. Diğer bir yandan trans bir şekilde birbirine bağlanan farklı hücrelerin CDH2 molekülleri heterotipik hücre-hücre adhezyonu oluştururlar buna bağlı olarak da kanserde bölgesel yayılmayı hızlandırır. CDH1 ve CDH2 protoonkogen protein olan β -catenin için sitozolik bölgede oldukça korunmuş bir bağlanma bölgesi içermektedir ve CDH1 β -catenini inhibe ederken CDH2 aktive eder (51).

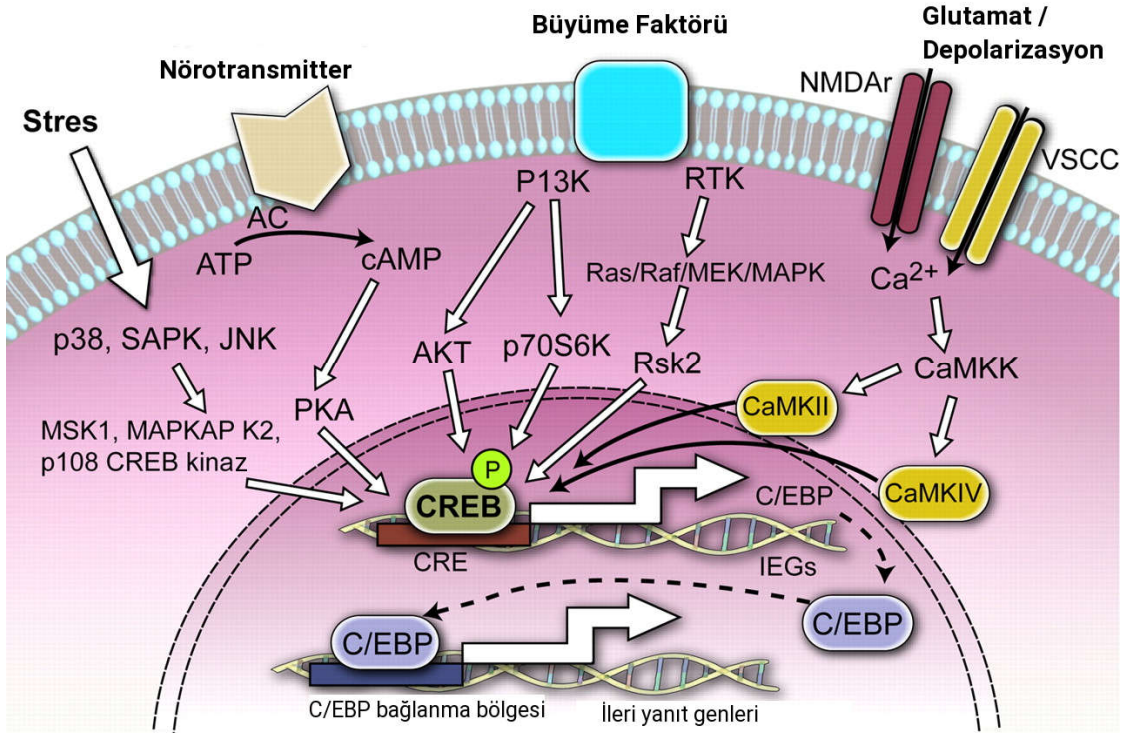
Hücre büyümesi, yaşamı, apoptozu ve farklılaşması süreçlerinde önemli rolü olan Notch yolağında anormallik meydana gelmesi kanser sürecinde önem arz etmektedir. Mide kanserinde de miR-124, Notch1 yolağından “jagged1” (JAG1) ligantının mRNA'sının 3'UTR bölgesini doğrudan hedef aldığından seviyesinin azalmasıyla yolda meydana gelen anormalliğe dayalı ilerlemeden sorumlu tutulmaktadır (52).

STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3)'ün 3'UTR bölgesini de hedef alan miR-124 akciğer kanserinde miR-124 azalmasına bağlı STAT3 artışından da sorumludur. miR-124 STAT3 mRNA'sını hedef alarak kanser hücrelerinin artışı azaltmaktadır. STAT3 hücre apoptozunu engelleyen ve tümör büyümesini teşvik eden siklin D1, survivin, Bcl-xL ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) anlatımlarını artırır (53). Hepatoselüler karsinomada da STAT3'ün miR-124 tarafından hedef alınmasıyla tümör büyümesi baskılanır (54).

Doğum sonrası tiroid fonksiyon bozukluğu veya fetal periyotta iyot eksikliği konuşma, karar verme, davranış ve hareket bozukluklarına yol açmaktadır. Tiroid fonksiyon azalması nöronları apoptoza sürüklediğinden ve miR-124'ün azalmasıyla

tiroid fonksiyon azalmasının ilişkili olduğu için nöronlarda miR-124'ün anti-apoptotik moleküllerin sentezlenmesinde görev aldığı düşünülmektedir (55).

CREB/Atf altfamilyasının ailesi olan CREB1 çekirdekte DNA'da spesifik cAMP yanıt elementleri (CREs) promotörlerine bağlanarak geni aktive eder (56). Kompleks bir sinyal yolağı olan ve farklı yollardan gelen bir çok molekül tarafından düzenlenen (57) transkripsiyon faktörü CREB1 (Şekil 7)'in 3' UTR'sini miR-124 doğrudan hedef alır (58). Temporal Lob Epilepsi (TLE) hastalarının temporal neokorteks bölgelerinde miR-124 seviyelerinde azalma meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak da CREB1 seviyesinde artma meydana geldiğinden miR-124 azalması TLE ile doğrudan ilişkilidir. NMDAR ve AMPAR da ise miR-124 seviyesine bağlı olarak değişmiş olsa da farkın anlamlı bulunmamış olmasından dolayı farklı mekanizmaların bu iki molekül anlatım seviyesinde etkili olduğu düşünülmektedir (59).



Şekil 7: CREB1'i aktive eden yollar (57)

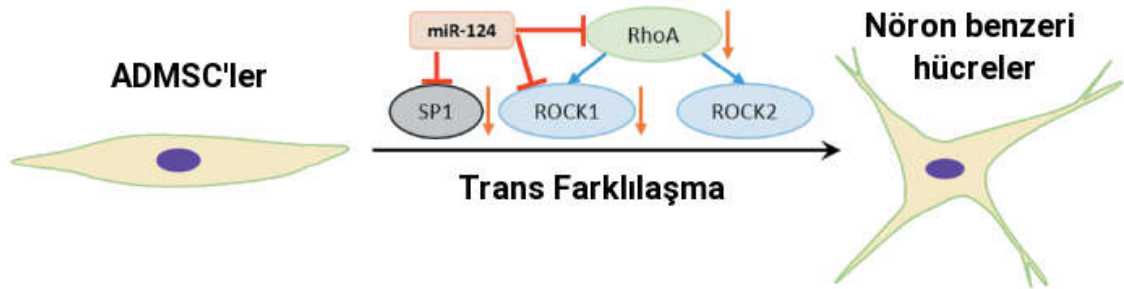
AH'nin önemli bir risk faktörü Kronik serebral hipoperfüzyon (CCH)'da BACE1 (β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1) ve Amyloid- β peptide ($A\beta$) seviyelerinde artış gözlenirken miR-124'te azalma görülmektedir. $A\beta$, AH'de beyinde belirleyici bir peptiddir. APP (amyloid precursor protein)'nin proteolitik olarak önce β -

daha sonra γ - sekretaz enzimleri kesilmesiyle A β oluşturan süreçte hız belirleyici etken BACE1'dir. BACE1 ifadesinin aşırı olması A β beyinde birikmeye sebep olarak AH'ye yol açmaktadır. MiR-124 BACE1'in 3' UTR'sini hedef almaktadır. A β , miR-124 anlatımını; miR-124 de BACE1 anlatımını düzenler (60).

Sarmal-döngü-sarmal (helix-loop-helix) yapıda olan transkripsiyon faktör 4 (TCF4)'ün polimorfizmi şizofreni ile doğrudan ilişkilidir. Sinir sistemi gelişiminde görev almaktadır (61). Dentritik hücreler (DC)'in alt üyesi olan plazmasitoid dentritik hücreler (pDC)'in gelişmesi ve iç dengesinde görev alan TCF4'ün, biyoinformatik çalışmalarda 3' UTR bölgesinde tamamlayıcı dizi içermesinin tespiti sonucu miR-124 için hedef gen olma ihtimali düşünülmektedir. Diğer alt üyeler ile kıyaslandığında pDC'de, miR-124'ün en az anlatım gösterdiği düşünülürse miR-124'ün DC gelişiminde tek yönlü bir etki göstermediği anlaşılmaktadır (62).

Songbai ve çalışma arkadaşları miR-124'ün sivrisinek kaynaklı nörotropik Japon beyin iltihabı virüsü (JEV)'nün replikasyonunu engellediğini bulmuşlardır. Kese yırtılmasından sorumlu olan GTPaz omurgalılarda korunmuş dynamin2 (DNM2), JEV çoğalması için gerekli bir gen ürünü olup mRNA'sının 3'UTR'si miR-124'ün hedefleri arasında yer almaktadır (63).

Ayrıca, miR-124 ROCK1 (Rho kinaz 1) genini hedef alarak dolaylı yoldan PI3K/Akt yolağını aktifleştirip nörit uzamalarına olanak sağlar (64). Ras homolog gen ailesi, A üyesi (RhoA), hücre iskeleti aktin düzenlemesinde yer alan küçük bir GTPaz'dır. ADMSCs (adipose-derived mesenchymal stromal cells) RhoA ile Rho kinaz (ROCK) inhibitörüdür (65).



Şekil 8: ADMSC'lerin nöron benzeri hücrelere dönüşmesine miR-124'ün etkisi (65)

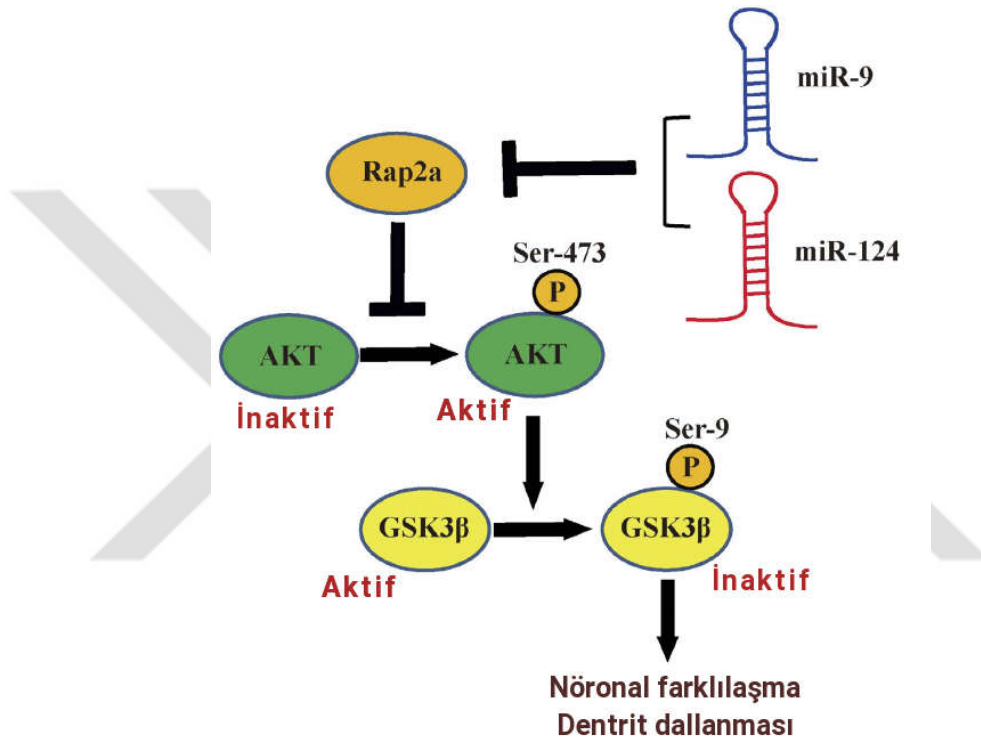
ROCK seviyelerinin azalmasıyla ADMSC'ler nöronlara farklılaşırlar. MiR-124 seviyesine bağlı olarak RhoA seviyesinde ve ROCK1 seviyesinde azalma görülürken ROCK2 de etkili olmadığı görülmüştür(Şekil 8). Bu bilgi ışığında Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada miR-124'ün RhoA ve ROCK1'i doğrudan hedef aldığını ve miR-124/RhoA/ROCK1'in nöron farklılaşmasında önemli bir yolak olduğu gösterilmiştir (65).

Oksisterol-bağlanma proteini (OSBP) lipid ve sterol hemostasisi, keseciklerin taşınması, hücre sinyali ve kolestrol dengesi gibi biyolojik olaylarda görev alan oksistireol bağlanma ailesinin bir üyesidir ve nörit oluşumunu baskılar. 3'UTR bölgesi miR-124 tarafından hedef alınan OSBP'in yoğunluğu ile nörit oluşumu ve boyuna uzanımı ters orantılıdır. Bu nedenle miR-124 miktarının artması OSBP'yi baskılayarak nörit oluşumunu ve uzamasını harekete geçirmiş olur (66).

Rap2a, Ras protein süper ailesinin üyesi olan Rap ailesine ait, nöron hücrelerinde sürgün kaybına ve dentritik kısalmalara yol açmaktadır. AKT/GSK3 β yolağında AKT'nin fosforilasyonunu engelleyerek yolağı bloke eden Rap2a hem miR-9 hem de miR-124 için hedef moleküldür. MiR-9 ve miR-124 birbirini güçlendirir şekilde Rap2a mRNA'sını doğrudan hedef alarak nöron farklılaşmasını ve dentritik kompleks yapı oluşumunu geliştirir (Şekil 9) (67).

RhoG (Ras Homology Growth-related) Rho ailesinden küçük GTPaz'dır. Epitel hücre plastisitesinde görev alan TGF- β (Transforming growth factor- β) ile teşvik edilen epitel-mezenkimal dönüşüm mekanizmasında RAC1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1) molekülünü inhibe ederek dolaylı yoldan rol almaktadır. Patolojik bir süreçle RPE (retinal pigment epithelium)'nin gözde camısı tabakaya yayılmasıyla başlayan ve görmeyi tehlikeye atan Yayılmacı vitreoretinopati (PVR:Proliferative vitreoretinopathy)'de miR-124 seviyesinin azalmasına bağlı olarak hedef molekülü olan RhoG seviyesinde artış ve RAC1 molekülünde azalma görülmektedir (68). Yine, akson ve dentrit dallanmasında görev alan RhoG proteinin translasyonundan sorumlu mRNA da miR-124 için 3'UTR bölgesinde tamamlayıcı dizi içermektedir ve RhoG anlatımı miR-124 ile baskılanmaktadır (69).

SOS1 (Son of sevenless 1) guanin nükleotid dönüştürme faktörü olarak bilinen bir moleküldür. Büyüme, çoğalma, farklılaşma, yayılma gibi birçok hücre fonksiyonunda görev alan MAPK yolağında inaktif Ras-GDP'yi aktif Ras-GTP'ye çevirir. Glioma hücrelerinde anlatım seviyesi düşük olan miR-124 SOS1 molekülünü için 3'UTR bölgesi aracılığıyla baskılayıcı rol üstlenmekte olup bu baskılama hücre yayılmasını da baskılamaktadır (70).



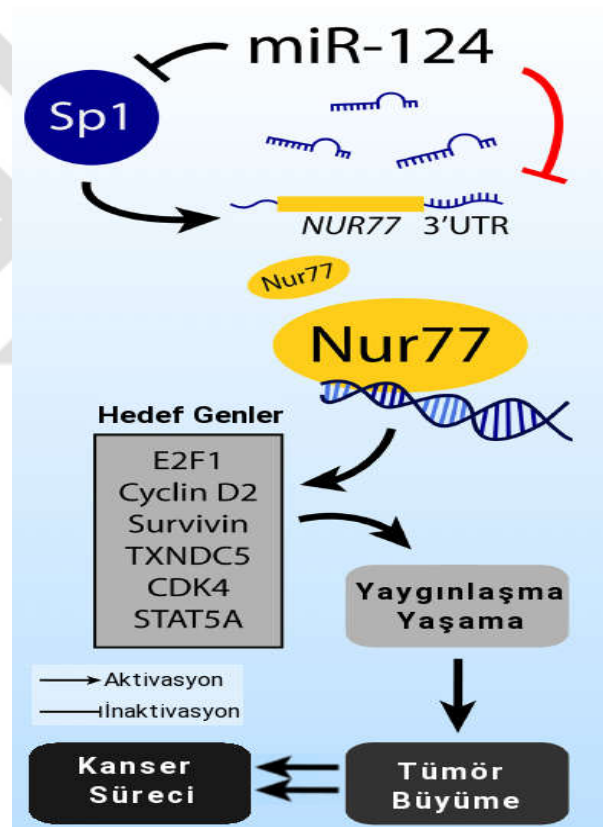
Şekil 9: Hem miR-9 hem de miR-124 Rap2a inhibe ederek dolaylı yoldan nöronal düzenlemede görev alır (67)

AH taşıyan bireylerin temporal korteks bölgelerinde çok sayıda miRNA'nın farklı DNA metilasyonları görülmektedir. Olgun miR-124 üç farklı lokasyondan (miR-124-1,-2,-3) sentezlenebilmektedir. Bunlar içerisinde miR-124-1 CpG adalarında hipermetilasyon gösterenler arasında yer almaktadır. Ayrıca SOS1 genini düzenlemede miR-124'le beraber iş yapan miR-9 da hipermetilasyon göstermektedir. Yine miR-125b-1 lokasyonu da AH'lerde hipermetilasyon göstermektedir (71).

Nükleer reseptörler, ligand bağlanan C-terminal ve DNA bağlanan N-terminal bölgeler içerirler. Nükleer reseptör 4 A (NR4A) ailesi N-terminal bölgesinde ekstra bir

transaktivasyon bölge (AF-1) içermektedir. Bu bölge NR4A hedef genlerinin dolaylı ya da doğrudan ko-reseptörler ve ko-aktivatörler aracılığı ile çalışmasında görev alır (72).

Nur77, kanserlerde aşırı anlatım gösteren, hücreyi apoptozdan koruyan ve hücre artışını teşvik eden bir transkripsiyon faktörü gibi davranan bir nükleer reseptördür ve onkogenik fonksiyonları vardır (Şekil 10). Oldukça malignant birincil beyin tümörü Daoy medulloblastoma ve farklılaşmamış sinir hücrelerinde Nur77 ile miR-124 arasında ters ilişki bulunmaktadır. Nur77 yüksek iken miR-124 düşük çıkmıştır (72).

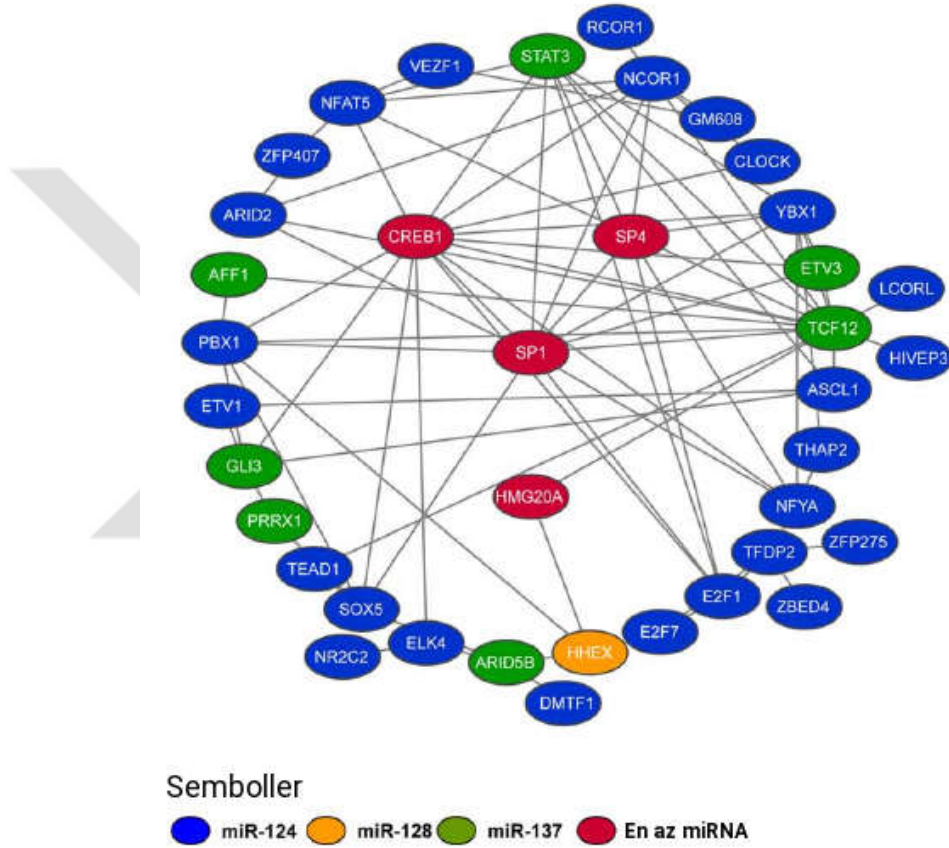


Şekil 10: NUR77 geninin miR-124 azalmasıyla kanser oluşumuna etkisi (72)

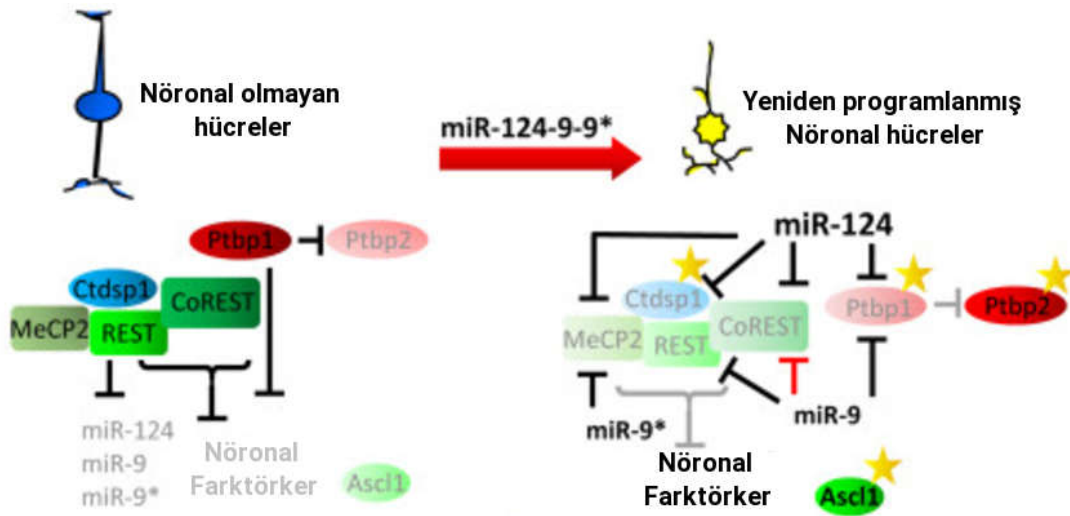
miR-124, -128, ve -137 bir gen kümesinin mRNA'sını hedef alarak nörojenez metabolizmasını düzenlemektedir. Nöron kök hücrelerinin nöronlara, astrositlere ve oligodentrositlere dönüşmesinde bu miRNA'ların anlatım seviyelerinin artması rol

almaktadır (Şekil 11). Özellikle Sp1'in protein etkileşim ağının geniş olması dolayısı ile bu süreçte ana molekül olduğu düşünülmektedir (73).

Nöron spesifik olan ve farelerin merkezi sinir sisteminde diğer dokulara oranla 100 kat daha fazla bulunan miR-124 (43), PTBP1 mRNA'sını hedef alır (74), PTBP1 protein miktarını azaltıp PTBP2 proteinini artırır (Şekil 12). Bu fonksiyonu normal koşullarda olgun hücrelerde ve farklılaşan hücrelerde gerçekleştirir (75).



Şekil 11: Transkripsiyon faktörlerinin STRING verbankası ile oluşturulmuş protein-protein etkileşimini gösteren ağı ve bu proteinleri hedef alan 3 miRNA'nın gösterimi (73)



Şekil 12: REST/CoREST/Ctdsp1/Ptbp1 yolağına miR-124'ün etkisi (74).

Evrimsel olarak korunmuş olan miR-124 (76) nöron hücrelerinde, Notch sinyal yolağında ligant reseptörü Jagged-1, yetişkin nörojenez transkripsiyon faktörü Sox-9 ve nöronların alt tiplerine özgülleşmesinde görev alan transkripsiyon faktörü DLX2 mRNA'larını hedef almaktadır (77). Ayrıca yaralanmış ya da hasar görmüş olan nöron hücrelerinde miR-124 miktarının azaldığı ve hedef proteinlerden olan ve akson uzamasında görevli “Krüppel-like factor 6” (KLF6) ve STAT3 proteinlerin arttığı gözlenmiştir (78). Hücre farklılaşması sırasında nörit büyümeyi düzenleyen miR-124 kısmi olarak da olsa hücre iskeleti oluşumunda görev almaktadır (74).

2.6. miR-125b

miR-125b iki farklı lokustan sentezlenmektedir: miR-125b-1 ve miR-125b-2(79). 388 genin anlatımını etkileyen miR-125b, 164 geni doğrudan hedef alır ve 129 gen mükemmel eşleşme gösterir (80). Bunlar arasında nöron farklılaşmasında azalan Lin-28 (42), tümör baskılayıcı protein olan p53 (81), glioma büyümesini engelleyen Connexin 43 (82) ve glutamat reseptörü olan tetramerik yapıdaki NMDA'nın alt birimi olan NR2A (83) yer almaktadır.

Ovaryum kanseri, mesane kanseri, karaciğer kanseri gibi kimi kanserler için tümör baskılayıcı rolü olan miR-125b'nin; prostat kanseri, mide kanseri gibi bazı kanserlerde de anlatım düzeyinin aşırı olmasına bağlı olarak kanser teşvik edici rolü bulunmaktadır (84).

Mide kanserinde miR-125b tümör baskılayıcı genler olan STARD13 (StAR-related lipid transfer domain protein 13) ve NEU1 protein mRNA'larını hedef almaktadır (84). Rho GTP'az aktive eden protein (RhoGAP) ailesinin üyesi olup (85) Rho-GTPaz baskılayıcı görevindeki STARD13 RhoA ve Cdc42 moleküllerini aktif hale getirir ve 3'UTR bölgesi miR-125b için 4 bağlanma bölgesi içermektedir (84). NEU1 ise RhoA ve SOS1 moleküllerinin bulunduğu yolların da içinde yer aldığı bir çok yolda yer alan integrin β 4'ü (86) hedef olarak desiyalizasyonun engeller (84).

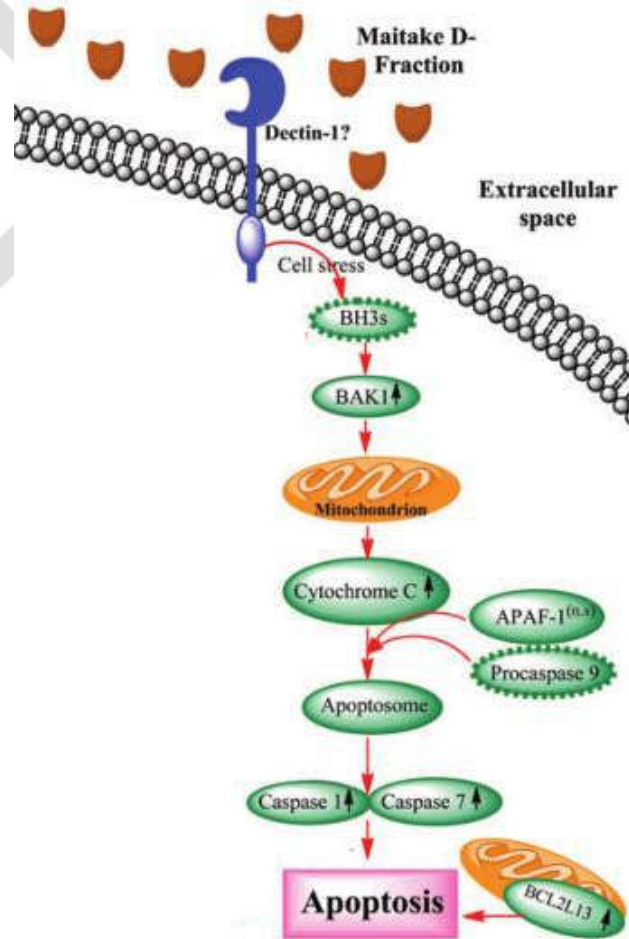
Mitojen-aktifleştirilmiş protein kinaz kinaz 7 (MAP2K7) ya da diğer adıyla MAP kinaz kinaz 7 (MKK7) ve MAP kinaz kinaz 4 (MKK4), MAPK grubunun c-Jun NH2-terminal kinaz (JNK)'ın aktivasyonunda yer almaktadırlar. Bağlantılı olmayan bir şekilde JNK Thr183 (MKK7 ile) ve Tyr185 (MKK4 ile) kalıntılarından ikili fosforlamada rol alan bu iki kinazdan MKK4 p38 molekülünü de aktive ederken MKK7 özgül olarak JNK'yı aktifleştirir. Bu aktivasyonlar proapoptotik faktörleri ya da transkripsiyon faktörlerini aktifleştirir. MiR-125b'nin biyoinformatik çalışmalarda MAP2K7 3'UTR için tamamlayıcı bölge olduğu ve lusiferaz muhbir yöntemiyle deneysel olarak doğrudan hedef aldığı gösterilmiştir. En yayılmacı ve agresif meme kanseri tipi olan TNBC (triple-negative breast cancer)'de miR-125b'nin epitel-mezenkimal transisyonu(EMT) inhibitör etkisi MAP2K7 artmasıyla azalmaktadır. Bu nedenle miR-125b TNBC kanser tipinde tümör baskılayıcı molekül olarak görülmektedir (87).

Epitel ovaryum kanseri (EOC)'nde de miR-125b, EMT ile ters orantılı olarak etkilidir ve nükleer onkogen olarak bilinen bölge spesifik DNA bağlanma proteini (88) SET'i hedef alarak, tümör baskılayıcı özelliği ile yayılma ve çoğalmayı inhibe etmektedir (89). SET proteini, histon proteini ailesinden H4 başta olmak üzere Histon asetilaz (HAT) ile nükleozomların histon asetilasyonunu baskılar. SET baskılamasının ortadan kalkmasıyla PP2Ac anlatımı artar, matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) anlatım seviyesi azalır. Buna bağlı olarak da hücre yayılması ve çoğalması azalır (89). SET proteini aynı zamanda MSS'de nöron öncülü hücrelerde de anlatım göstermektedir ve görevi omiriliğin organogenesis sürecinde yer alan genleri aktive edildiği düşünülmektedir (88).

miR-125b-1 lokusunun promotör bölgesinde meydana histon modifikasyonlarına (H3K9me3 ve H3K27me3) bağlı meme kanserinde mir-125b anlatımda azalma tespit edilmiştir. miR-125b seviyesinin artmasıyla da hedef molekülü BAK1 (Bcl-2 antagonist

killer 1) anti-apoptotik protein seviyesinde azalma ile meme kanserinde gerileme gerçekleşmektedir (79).

Ancak, kronik miyeloid lösemi (CML)'de ise miR-125b anlatım düzeyi sağlıklı bireylere kıyasla daha fazla olmaktadır. CML için tümör teşvik edici miRNA olan miR-125b BAK1 mRNA'sını baskılar. BAK1'in apoptoz ve hücrelerin kendi kendini yeme (otofaji) ile ilişkili olduğu bilinmektedir ve mitokondriyal apoptotik yolak da görev aldığı tespit edilmiştir (90). Sitokrom C'yi mitokondride aktif hale getiren BAK1, kaspaz1 ve kaspaz7 moleküllerini dolaylı yoldan çalıştırarak hücreyi apoptoza sürüklemektedir (Şekil 13) (91). Bu da miR-125b'nin farklı dokularda BAK1'i hedef alması farklı sonuçlar oluşturabileceğinden anlatım seviyeleri de farklılık gösterebilmektedir.



Şekil 13: BAK1 dolaylı yoldan kaspaz1 ve kaspaz7 mekanizmasını aktif hale getirerek hücreyi apoptoza sürükler (91).

Beyinde zengin bulunan miR-125b (42) lin-4 homologu olarak da bilinir. Diğer dokularda da bulunsa da başta olgun nöron hücreleri olmak üzere sinir sisteminde oranla daha fazla bulunmaktadır (80). Nörogenesis esnasında anlatımı artan miR-125b (80) nöron farklılaşmasını yönetir (81). Sinaptik fonksiyon (82) ve dentritik spin morfoloji düzenlenmesinde de görev almaktadır (83).

Lin28 (cell lineage abnormal 28) yüksek organizasyonlu ökaryotlarda korunmuş RNA bağlanma proteindir ve gelişme, glikoz metabolizması, farklılaşma ve pluripotensi gibi çeşitli önemli hücresel işlevlerde görev alırlar (92). Erken gelişme sürecinde anlatımı yapılan Lin28'in eksikliği vücut boyutunda azalmaya yol açmaktadır (93). Farklılaşmayı baskımlarken hücre artışını tetikler. MiR-125b ise Lin-28 mRNA'sını hedef alarak protein seviyesinin azalmasına yol açar (42).

Connexin (Cx) genleri tümör baskılayıcı genler olarak bilinmekte olup memeli dokularında 20 üyesi tanımlanmıştır. Doku spesifik Cx proteinlerinden Cx43 beyinde baskın olarak bulunur ve glial hücreler arası iletişimden sorumlu gap bağlantılarının oluşturulmasında önemli bileşendir. Astrositomun malignant olma özelliği Cx43 anlatım seviyesi ile ters orantı göstermektedir. Yüksek derecedeki gliomalarda da Cx43 azalması veya silinmesi sıklıkla görülmektedir (94).

Cx43 ve tetramerik yapıda olup olarak gen onarımında, angiogenez oluşumunu engellemede, apoptoza teşvikte görev alan çeşitli yolakların içerisinde yer alan (95) p53 mRNA'larını baskılayan miR-125b ekspresyonu tümör büyüklüğü ile doğru orantılıdır ve metastas gösteren ve farklılaşmanın az olduğu yerlerde önemli artış gösterir (83). Ayrıca NR2A'yı hedef almasına dayalı olarak miR-125b anlatımında artış sinir hücrelerinin daha ince ve uzun sürgüne sahip olmalarına neden olur (83).

2.7. MiR-206

miR-206 diğer dokularda da eser miktarda bulunsa da iskelet kasına spesifik en çok çalışılmış miRNA'lardandır. Anlatım seviyesinde azalma Duchenne kas distropisi, amiyotropik lateral skleroz gibi çeşitli kas hastalıklarına yol açmaktadır. Ayrıca dolaşımdaki miR-206 seviyesi potansiyel biyomarkır olarak görülmektedir (96).

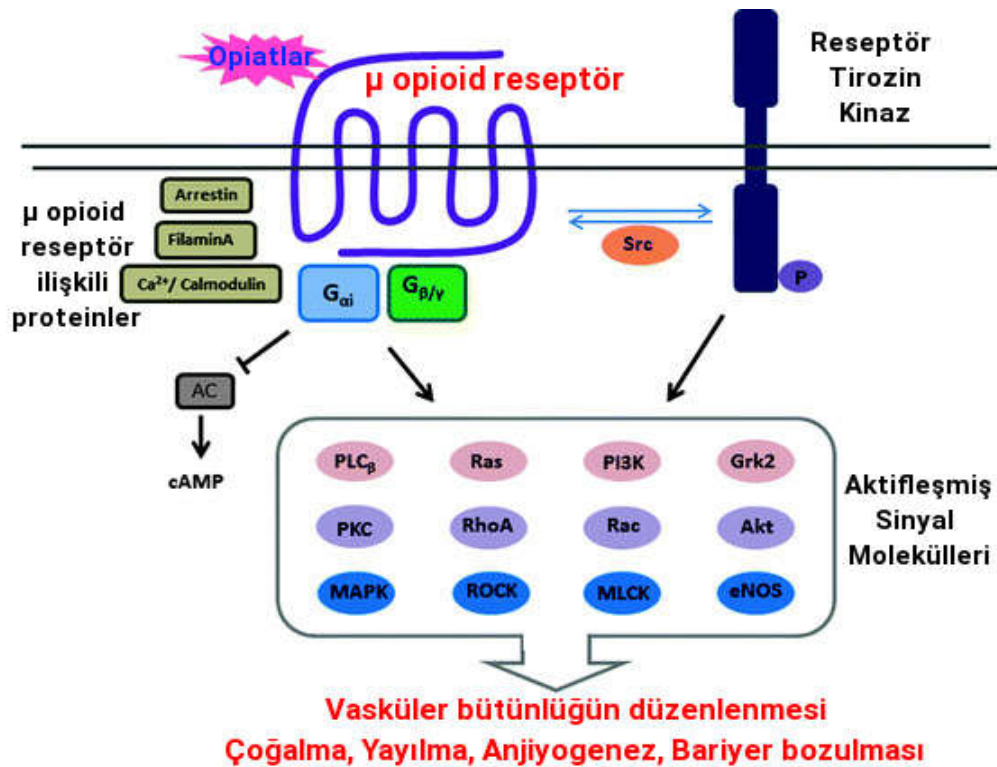
Cx43, miR-206 tarafından da hedef alınmaktadır ve kas hücresinin farklılaşmasında baskılanması gerekmektedir (96).

Miyogenik farklılaşma sırasında BDNF anlatımı miR-206 tarafından düzenlenebilmektedir ve bunun için BDNF'nin 3'UTR bölgesini hedef alır (97). İskelet sistemine spesifik olsa da beyin dokusunda da çeşitli mekanizmalarda görev almaktadır. miR-206 şizofren ilişkili genleri hedef alması da bunu desteklemektedir (98). Ayrıca hücreleri çeşitli hücre ölümlerinden koruyan BDNF, AH'de da miR-206 artışına bağlı azalma göstermiştir (99).

BDNF, nörotrofin ailesindedir (100) ve sinaptik plastisite ve dentritik spin oluşumunda da önemli görevler almaktadır (15,100). Stres ile miktarı azalan BDNF, öğrenme süreçleri, çeşitli antidepresan tedavileri, fiziksel aktiviteler gibi yöntemlerle artırılabilir. Eksikliğinde ise Huntington hastalığı, şizofreni, cinnet geçirme, depresyon gibi sinir sistemine dayalı hastalıklara yol açabilmektedir (100). Kas spesifik olan miR-206 ile ilgili çalışmalar genellikle kas hücrelerine yönelik olup MSS hücrelerinde çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

2.8. MiR-339

μ -opioid reseptör(MOR) bir çok proteinin aktifleştirilmesinde görev alan opiat ligandlarına duyarlı yedi geçişli bir transmembran moleküldür (Şekil 14) (101).



Şekil 14: μ -opioid reseptörünün yapısı ve ilişkili olduğu moleküller (101)

miR-339, G-protein eşleştiren reseptör olan (102), ayrıca opioid ilaçlarla doğrudan ilişkili MOR'ün 3'UTR bölgesine bağlanır ve morfin ve fentalin kullanımına bağlı olarak artış gösterir (103).

Normalde lenf nodlarının B-hücreleri oluşum merkezinde anlatımı yapılan transkripsiyon faktörü BCL-6, BTB/POZ çinko parmak protein ailesinin üyesi nükleer oncoproteindir (104) ve B-hücrelerinin büyüme ve gelişme düzenlenmesinde görev almaktadır (105). BCL-6 hedef genin promotör bölgesine bağlanarak bir transkripsiyon baskılayıcı işlevine sahiptir (106). İstilacı meme kanserinde aşırı anlatım göstermekte ve memeye ait epitel farklılaşmayı önlemekte (105) olan BCL-6, siklin-D1, p53 ve HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α) aşırı anlatımı ile ilişkili olarak tespit edilmiştir (107). BCL-6 mRNA'sını doğrudan hedef alan miR-339 meme kanserinde de etkili olan bir miRNA'dır. Anlatımı azalan miR-339 transfekte edildiğinde hücre hattında büyüme eser miktarda da olsa azalmış ve yayılma önemli derecede önlenmiştir (103). Ayrıca NACC1 (nucleus accumbens associated 1) mRNA'sı da miR-339-5p tarafından hedef alınır ve BCL-6 ile beraber NACC1 anlatım düzeyleri ovaryum kanserinde miR-339-5p azalmasına dayalı artış göstermektedir (108).

PRL-1 (phosphatases of regenerating liver-1) bir onkogen molekül olup protein trozin fostataz (PTP)'ların farklı bir sınıfında yer almaktadır ve bu sınıf en küçük PTP'ler olarak bilinir (109). PRL-1, p115 RhoGAP'a bağlanarak katalitik aktivitesini durdurur ve bu durdurma ERK1/2 ve RhoA yolağının aktifleşmesini teşvik eder (110).

Kolon kanserinde aşırı anlatım gösteren PRL-1 deneysel biyoinformatik analizi ve lusiferaz muhbir analizi ile olgun miRNA olan miR-339-5p'nin doğrudan hedefi olduğunu belirlenmiştir. Fonksiyonel çalışmada kolon kanserinde seviyesi düşük çıkan miR-339-5p'nin anlatımında artış kolon kanserini çoğalma ve koloni oluşumunu engelleyerek baskılamıştır (109).

MiR-339, ayrıca AH ile yakından ilişkili olan BACE1 enzimini hedef almaktadır ve AH'lerde bu miRNA'nın anlatımında bozulmalar görülmüştür (111).

İskemik felç, sinir hücrelerinin ölümünden kaynaklı olarak meydana gelmekte olup Batı ülkelerinde üçüncü en büyük ölüm sebebi olarak görülmekte ve bu hastalığa sahip bireylerin de miR-339 düzenlenmesinde artış tespit edilmiştir (112).

2.9. Alkol Kullanım Bozukluğu ve miRNA'lar

In vitro ve *in vivo* çalışmalar göstermektedir ki, bazı miRNA'ların anlatımları alkol etkisiyle değişmektedir (12). Sathyan ve arkadaşları, apoptozu düzenlemede görev alan dört miRNA'nın (miR-9,21,135 ve 355) alkol ile anlatımlarının baskılandığını göstermişlerdir (13). Farelerin mikroglial hücrelerinde p53 tümör supressör genini kontrol eden miR-339'un anlatımında alkole bağlı artış gözlemlenmiştir (14). Henüz tam anlamıyla görevi bilinmemekle beraber opaminerjik nörotransmisyonda görev alan ve dopamin alımını baskılayan alfa-Synuclein'i kontrol eden miR-7 ve miR-153'ün alkol alımına bağlı anlatımları değişmiştir (3).

Hedeflerinden biri, hem sinaptik plastisitede hem de uzun süreli nöronal bağlantılarda görev alan BDNF olan miRNA-206 alkol verilen farelerde (15) ve nörodejeneratif hastalık olan Alzheimer'da aşırı anlatım göstermektedir (16). Biyoinformatik çalışmalarda, miR-206'nın, BDNF 3'UTR bölgesinde üç adet korunmuş bağlanma bölgesi olduğu tespit edilmiştir (15).

Aplysia californica'nın beyinde en korunmuş ve en bol bulunan miRNA olarak gözlenen miR-124 ise CREB'i baskılayarak kısa süreli ve uzun süreli sinaptik rahatlamaları dengelemektedir. miR-124 azalmasıyla CREB artışı, buna bağlı olarak da serotonin duyarlılığı artar ve uzun süreli sinaptik rahatlama artar (11).

Mikroglial hücrelerde miR-339 alkol kullanımı ile ilişkili olarak artış göstererek NF- κ B yolağını IKK- β ve IKK- ϵ moleküllerini inhibe ederek sekteye uğratar ve proinflamator faktör sentezini olumsuz yönde etkiler (14).

Yapılan çalışmalara bakılarak alkolün miRNA anlatım seviyelerini değiştirerek anormalliklere yol açabildiği görülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Dokuların Toplanması

Örnekler İstanbul Adli Tıp Kurumu tarafından toplandı. Bireylerin yakınlarına doldurtulan “alkol kullanım bozukluğu tespit formu” aracılığı ile belirlenen 30 alkol kullanım bozukluğu olan erkek bireylerin ve 30 normal erkek bireylerin frontal korteks bölgesinden dokular toplanarak önce RNAlater solusyonu içerisinde 24 saat bekletildi, RNAlater uzaklaştırıldıktan sonra da dokular -80°C'de bekletildi.

3.2. Total RNA izolasyonu

Her bir örneğin ~30mg'lık kesiti kullanıldı. “QIAGEN lysis agent” trizol aracılığı ile total RNA izolasyonu yapıldı. Her bir doku steril ortamda bistüri ile parçalanarak deney tüpüne aktarıldı ve 30ml QIAGEN lysis agent trizol eklendikten sonra doku tamamen parçalanana kadar vorteks yapıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra 60µl kloroform eklenip tekrar 15 saniye vorteks yapıp 2-3 dakika oda sıcaklığında beklemeye alındı. +4°C'de 12000g'de 15 dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant kısmı başka bir tüpe aktarıldı ve 150µl isopropanol eklenerek vortekslendi. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra +4°C, 12000g'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra 300µl %75'lik etanol eklenip pipetaj yapıldıktan sonra 7500g, +4°C'de 5 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant tamamen uzaklaştırıldıktan sonra alkolün tamamen uzaklaştırılması için bekletildi ve son olarak 50µl “Rnase free” distile su eklenerek elde edilen total RNA çözdürüldü.

Yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen total RNA miktarı nanodrop ile ölçüldü.

3.3. cDNA sentezi

Elde edilen total RNA'lar 1µg/5µl olacak şekilde sulandırıldı ve cDNA sentezi için QIAGEN miScript® II RT kiti kullanıldı. Her bir örnek için Tablo 2'de belirtilen sıra ve miktarlara göre karışım hazırlandı. Kalıp RNA en son eklenerek 60 dakika 37°C'de bekletilerek cDNA sentezi gerçekleştirildi ve reverse transkriptaz enzim inhibisyonu için 95°C de 5 dakika bekletildi.

Tablo 2: Reverse transkripsiyon reaksiyon bileşenleri

Bileşen	Hacim/kalıp(μ l)
5x miScript HiFlex Buffer	4
10x miScript nükleik karışımı	2
Rnaz free distile su	7
MiScript Reverse Transkriptaz karışımı	2
Kalıp RNA (en son eklenmesi gerekir)	5
Total hacim	20

3.4. Real-Time PCR uygulama ve analizi

cDNA sentezinden sonra QIAGEN miScript SYBR® Green PCR kiti ile Real - Time PCR analizi yapıldı. Her bir örnek PCR uygulaması için 20ng/reaksiyon olacak şekilde sulandırılarak sürece uygun hale getirildi.

Öncelikle beş ayrı tüpe sırasıyla RNU6_2(kontrol gen), miR-124, miR-125b, miR-206 ve miR339 primerleri için ayrı ayrı Tablo 3'te belirtilen miktarlar temel alınarak karışım hazırlandı ve kalıp RNA'lar eklenmeden her bir primer karışımı 96'lık plakalara her bir kalıp için ikişer ölçüm yapılacak şekilde dağıtıldı.

Tablo 3: olgun miRNA için miScript SYBR Green kit karışımı (96'lık plaka)

Bileşen	Hacim/kuyucuk(μ l)
2x Quantitech SYBR Green PCR master mix	6,25
10x miScript Universal Primer	1,25
10x miScript Primer Assay	1,25
Rnaz free distile su	2,50
Kalıp RNA(en son eklenmelidir)	1,25
Total hacim	12,50

En son kalıp RNA karışımı plakaya eklendikten sonra Tablo 4'teki döngü koşullarıyla real-time PCR analizi yapıldı.

Tablo 4: real-time PCR döngü koşulları

Adımlar	Süre	Sıcaklık (°C)	Döngü Sayısı
Enzim aktivasyonu	15dk	95	1
3 adımlık döngü:			
Denatürasyon	15 sn	94	40
Normalleştirme	30 sn	55	
Uzama	30 sn	70	

3.5. İstatistiksel Hesaplamalar

Her bir örnek her bir gen için ikişer kez real-time PCR yapıldı. Her bir genin her bir tekrarı için real-time PCR sonucu olarak C_T elde edildi. Her örnekte bir gen için elde edilen iki sonucun ortalaması alınarak ortalama C_T değeri hesaplandı.

Elde edilen C_T değerleri “QIAGEN sabiosciences” web portalında (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/mirna/arrayanalysis.php>) istatistiksel analiz yapıldı.

C_T değerlerinin bulunduğu Excel dosyası web portalına göre düzenlendi. Portala aktarılan verilerden deney ve kontrol grupları seçildi. Güncelleme (“update”) yapıldıktan sonra program bize ΔC_T , $\Delta\Delta C_T$, $2^{(\Delta\Delta C_T)}$, deney ve kontrol arasındaki anlatım kat değişimini ve p değerini vermektedir. Kat değişimi ve p değeri $2^{(\Delta\Delta C_T)}$ ile hesaplanmaktadır. Sonuç olarak “Student's t testi” kullanan programda anlamlılık sınırını $p < 0,05$ olarak kabul edilmektedir.

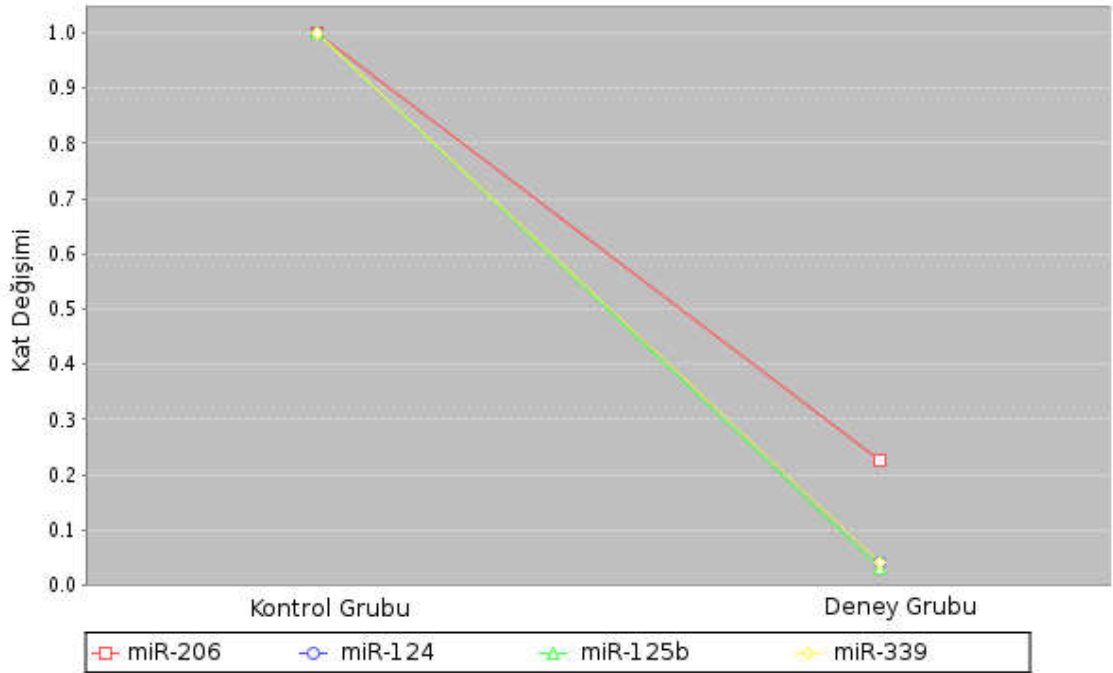
ΔC_T : Her bir örneğin her bir geninin C_T değerinin kontrol geni C_T değerinden ile farkı

$\Delta\Delta C_T$: Bir genin deney ΔC_T değeri ile kontrol ΔC_T değeri farkı

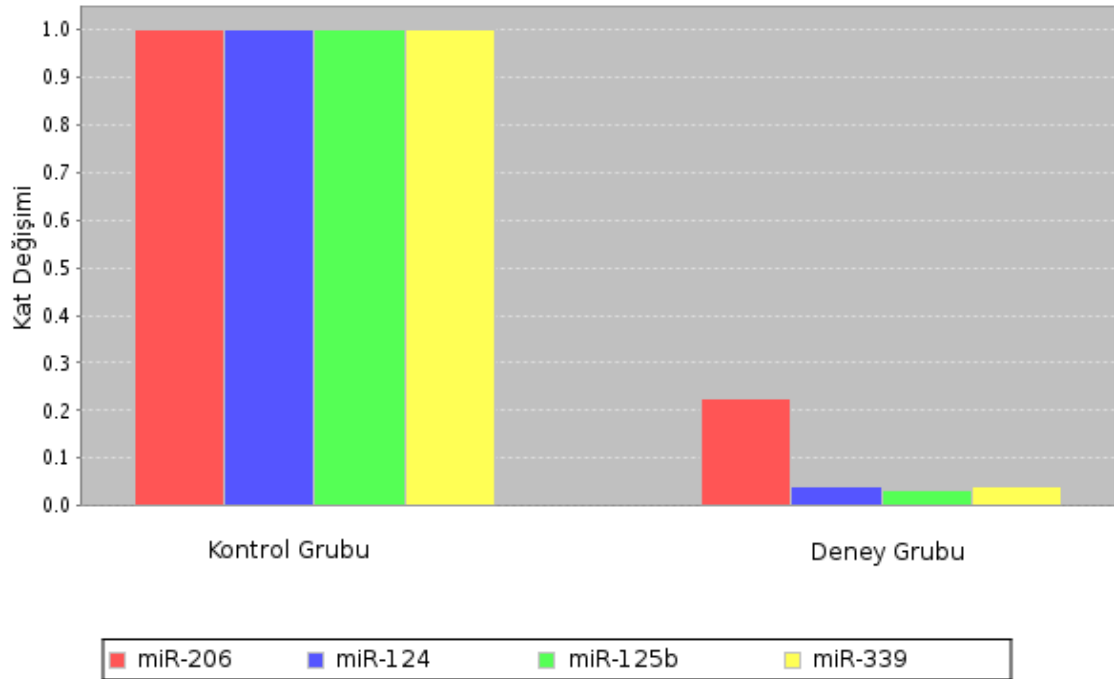
$2^{(\Delta\Delta C_T)}$: 2'nin $\Delta\Delta C_T$ dereceden kuvveti

4. BULGULAR

Bu çalışmada iki örnek grubu yer almaktadır. Deney grubu alkol kullanım bozukluğu olan erkek bireylerden oluşurken, kontrol grubu alkol kullanmayan erkek bireylerden oluşmaktadır. 30 deney grubu bireyi ve 30 kontrol grubu bireyin frontal korteks bölgesinden alınan dokudan total RNA izolasyonu yapıldıktan sonra real-time PCR ile olgun miR-124,125b,206 ve 339 anlatım analizleri incelenmiş ve her iki grup arasındaki ekspresyon farkı incelenmiştir. Dört miRNA'da da azalma görülmektedir(Şekil 15). Ancak miR-206daki azalma daha az olup (Şekil 16) seviyesinde anlamlı bir fark görülemediği.



Şekil 15: miR-124, -125b, -206 ve -339 seviyelerinin erkek bireylerde frontal korteks anlatım seviyelerindeki değişimin istatistiksel sonucunun doğrusal grafiği



Şekil 16: miR-124, -125b, -206 ve -339 seviyelerinin erkek bireylerin frontal kortekste anlatım seviyelerindeki değişimin istatistiksel sonucunun sütun grafiği

4.1. miR-124

MiR-124, alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmektedir ($p < 0,05$). Tablo 5'te miR-124'e ait real-time PCR sonuçları görülmektedir. Alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin normal bireylere kıyasla miR-124 kat değişimi -24,02 olarak tespit edilmiş olup p değerinin 0.05'den küçük olması dolayısı ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma görülmüştür.

Tablo 5: miR-124'ün deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi

miR-124	Deney Grubu	Kontrol Grubu
ΔC_T	0,48	-4,10
	Deney Grubu-Kontrol Grubu	
$\Delta\Delta C_T$	4,59	
$2^{(\Delta\Delta C_T)}$	0,04	
Kat değişimi	-24,02	
p değeri	0,043670	

4.2. miR-125b

Alkol kullanım bozukluğu olan bireyler ile normal bireyler arasında miR-125b kat değişimi oldukça anlamlı görülmektedir ($p < 0,001$). Real time PCR sonuçları Tablo 6'de görülen miR-125b'in alkol kullanım bozukluğu olan deney grubu ile kontrol grubu arasındaki kat değişimi -31,75 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel hesaplamalarda p değeri 0.001'den küçük olması farkın oldukça anlamlı düzeyde olduğunu göstermektedir.

Tablo 6: miR-125b'nin deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi

miR-125b	Deney Grubu	Kontrol Grubu
ΔC_T	0,33	-4,65
	Deney Grubu-Kontrol Grubu	
$\Delta\Delta C_T$	4,99	
$2^{(\Delta\Delta C_T)}$	0,03	
Kat değişimi	-31,75	
p değeri	0,000317	

4.3. miR-339

Alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin beyin frontal kompleks bölgelerinde normal bireylere kıyasla miR-339 seviyesinde oldukça anlamlı farklılık göstermektedir ($p < 0,005$). Real-time PCR sonuçları Tablo 7'da gösterilen miR-339'un kat değişimi -25,16 olarak hesaplanmıştır ve 0,005'den küçük p değerine sahip olmasıyla farkın oldukça anlamlı olduğu görülmektedir.

Tablo 7: miR-339'un deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi

miR-339	Deney Grubu	Kontrol Grubu
ΔC_T	8,83	4,17
	Deney Grubu-Kontrol Grubu	
$\Delta\Delta C_T$	4,65	
$2^{(\Delta\Delta C_T)}$	0,04	
Kat değişimi	-25,16	
p değeri	0,001046	

4.4. miR-206

İskelet kasında anlatım seviyesi yüksek olan miR-206'nın yapmış olduğumuz deneylerde beyin frontal korteks bölgesinde anlatım seviyeleri düşük çıkmıştır. 0,05'ten büyük p değerine sahip olması dolayısı ile deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Tablo 8'de sonuçları gösterilen miR-206'da her ne kadar kat değişimi negatif görülse de iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 8: miR-206'nın deney ve kontrol grupları arasındaki kat değişimi

miR-206	Deney Grubu	Kontrol Grubu
ΔC_T	11,85	9,68
	Deney Grubu-Kontrol Grubu	
$\Delta\Delta C_T$	2,17	
$2^{(\Delta\Delta C_T)}$	0,22	
Kat değişimi	-4,42	
p değeri	0,169620	

5. TARTIŞMA

Alkol dünya genelinde en çok kullanılan ve sağlık açısından ciddi sorunlar ortaya çıkaran kullanım bozukluğu hastalığı oluşturan maddedir (113). Alkol ilişkili hastalıklar en çok 35-55 yaşları arasında görülmektedir. Alkole bağlı hastalıkların başında alkole bağlı coşmalar ve sayıklamalar (%12,8), kasılma nöbetleri (%11,4), baş ağrıları (%9,4) ve siroz (%8,1) yer almaktadır (114).

Büyüme çağında aşırı alkol tüketimi beynin gri maddesinde azalmaya ve beyaz maddesinde artmaya ve hafıza çalışmalarında ve engelleme görevlerinde daha fazla beyin aktivasyon gerekliliğine sebep olmaktadır (115).

Glioblastomada miR-124 seviyesinde ciddi derecede azalma görülmüştür (116). STAT3'ün 3'-UTR'sine bağlanarak translasyonu engelleyen miR-124 hücre çoğalması üzerinde baskılayıcı etkiye sahiptir (117). Yine miR-124 hCLOCK1'in 3'-UTR'sini doğrudan hedef alarak protein anlatım seviyesini azaltır ve bunun sonucu olarak glioblastoma sürecinde hücre çoğalma, yayılma ve invazyonu azalır (118). Ayrıca tiroit fonksiyon azalması olan sıçanlarda miR-124 tedavisi hipokampal nöron apoptozu da önlediği tespit edilmiştir (55). miR-124'ün Drosophila'da Notch sinyal yolunda Delta'yı hedef alarak AH'de nöroprotektif görev aldığı ve miR-124 artışı ile hastalıkta azalma olduğu gözlenmiştir (119).

Epilepsi hastalarında miR-124 oranı sağlıklı bireylere oranla daha düşük miktarda bulunmaktadır. AMPAR (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor) ve NMDAR (NMDA receptor) aracılı mekanizmalar yoluyla dolaylı olarak miR-124 epileptik hiperaktiviteyi azaltır. Bunu da CREB1'in 3'-UTR'sini doğrudan hedef alarak yapar (59).

Yapmış olduğumuz çalışmada alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde miR-124 anlatım seviyesi normal bireylere kıyasla oldukça düşük çıkmıştır. Bu da alkol kullanan bireylerin uzun vadede miR-124 anlatım seviyesi azalmasına bağlı olarak nörodejeneratif hastalıklara yol açabileceği daha önceki çalışmalar ile örtüşmektedir.

En yaygın beyin tümörü olan glioblastomada miR-124 seviyesinin az olması alkol kullanım bozukluğunun miR-124'e bağlı glioblastomaya sebep olabileceği söylenebilir. Ayrıca AH ve Epilepsi rahatsızlığında da miR-124 seviyelerinin az olması

alkol kullanım bozukluğunun yaptığımız çalışmayla doğrudan örtüşmesi bu hastalıkların oluşmasında alkol kullanım bozukluğunun da etkili olabileceğini göstermektedir.

MiR-124 dışında farklı miRNA'ların da ve AH arasında önemli ilişkileri tanımlanmıştır (120). Bunlardan bir diğeri de miR-125b'dir. Glioblastomada artış gösteren miR-125b (121,122), AH'lerde azalma göstermekte olup (123), bu hastalığa karşı nöron koruyucu miRNA olarak görülmektedir (124).

Ayrıca fare embriyolarında miR-125b regülasyonunun artmasıyla etanol indüklenmiş kaspaz-3-aktivasyonu ve etanol kaynaklı gelişmenin yavaşlamasındaki azalma miR-125b'nin etanol bağlantılı apoptozu önlediğini göstermektedir (125).

Çalışmalarımızın sonucunda miR-125b seviyesi alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde kontrol grubuna göre oldukça düşük çıkmıştır. Dolayısı ile alkol kullanım bozukluğunun sadece miR-124 değil miR-125b'nin seviyesini azaltmasıyla da AH'ye yol açabileceği görülmektedir.

miR-339-5p, NACC1 ve BCL6'yı hedef alarak ovaryum kanserinde yayılma ve istilayı önler. Dolayısı ile miR-339-5p ovaryum kanseri için tümör baskılayıcı olarak görev almaktadır (108).

Ayrıca, MDM2 oncoprotein, tümör supresör protein olan p53'ü baskılar. miR-339-5p ise MDM2'yi hedef alarak p53 aktivitesinin düzenlenmesinde görev alır. miR-339-5p MDM2 oncoprotein ile ters p53 ile doğru orantı göstermektedir (126).

Yaptığımız çalışmada ise miR-339-5p alkol kullanım bozukluğu olan bireylerde oldukça anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Bu azalma önceden belirtmiş olduğumuz bilgiler ışığında dolaylı olarak p53 proteininde de azalmaya yol açacağından tümör baskılama mekanizmasında hasarlar meydana gelebilir ve beyin tümörlerine sebep olabilir.

Zhang ve çalışma arkadaşlarının fareleri alkole maruz bırakmasıyla mikrogial hücrelerde miR-339 artışı gözlemlenmiş (14) olsa da kısa vadeli olarak artışa sebep olabilen alkol uzun vadeli alkol kullanımında bireyin zamanla miR-339 anlatım seviyesini tersine çevirmiş olabilir.

Yapmış olduğumuz çalışmada 4 farklı miRNA'nın anlatım analizi yapılmış olup bunlardan üçünde anlamlı fark görülmüştür. Ancak miR-206 her ne kadar azalma

göstermiş olsa da alkol kullanım bozukluğu olan deney grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Bunun sebebi, miR-206 normalde iskelet kas hücrelerinde yüksek düzeyde anlatım gösterip beyinde anlatım seviyesinin düşük olması olabilir. Dolayısı ile aradaki farkın istatistiksel olarak gerçekten anlamlı olup olmadığı kullanılan örnek sayısının ve real-time PCR tekrar sayısı artırılmasıyla daha kesin sonuç elde edilebilir.

Alkol kullanım bozukluğu gerek daha önce yapılmış çalışmalarda gerek bizim yapmış olduğumuz çalışmada gösterilmiştir ki çeşitli miRNA anlatım seviyesini değiştirmektedir. Bu değişimlerin de merkezi sinir sistemine bazı hastalıklara yol açabilmektedir. Bu hastalıklar arasında AH, şizofreni gibi önemli rahatsızlıklar yer almaktadır.

Alkol kullanım bozukluğu bireyin ruhsal değişimlerin çok olduğu gençlik dönemine denk gelmektedir ve bu dönemde hem ruhsal bunalımdan kurtuluş yolu hem de yetişkin birey gibi görülme çabası olarak alkol ve sigara kullanımını tercih edebilmektedir. Sosyal çevre ile beraber alkol tüketip sarhoş olma eğilimi de sosyal içicilik olarak değerlendirilir; ancak alkol kullanım bozukluğuna götüren bir adımdır (127).

Alkol tüketimine başlama yaşı 15-18 yaşları arasında yoğunlaşmaktadır. Ancak 12 yaşında alkolle tanışanların oranı (%8,2) da dikkate değer derecededir (127).

Bağımlılık tedavi yöntemleriyle durdurabilir olsa da tam olarak iyileşme mümkün olmadığından bağımlılık öncesi tedbirler alınmalıdır. Devlet ve sivil toplum kuruluşlarının alkol ve diğer madde bağımlılığı konusunda çeşitli medya yollarıyla kamu spotları verse de her geçen zaman içerisinde alkol tüketiminin artması (127) bu çalışmaların tam anlamıyla yetersiz olduğunu göstermektedir. Bu nedenle alkol tüketimi ve sağlık yönünden verdiği zararlar konusunda ebeveynler daha iyi bilinçlendirilmelidir.

Ayrıca MSS'de meydana gelen hasarların daha önce de değindiğimiz gibi geri dönüşümü diğer dokulara nispeten daha zor olduğunu hatta tam iyileşmenin mümkün olmayacağı alkol kullanımının hiç başlamadan önlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, alkol, kullanımı çok küçük yaşlarda başlayan ve kullanım bozukluğuna götüren bir madde olması, ve geri dönüşü zor olması, başta ebeveynlerin daha sonra da devlet ve kamu kuruluşlarının genç bireyleri bu tip alışkanlıklara ve

olumsuz yönde etkileyen sosyal çevreye karşı korumada daha yapıcı yöntemler keşfetmeyi zorunlu hale getirmektedir.

Ancak zaten alkol kullanım bozukluğu olan bireylerin alkole dayalı kanser, AH, şizofreni, epilepsi gibi fizyolojik hastalıklara yakalanmasının temelinde miRNA'ların etkisi dolaylı olarak bulunabilir. miRNA seviyelerinin artması veya azalmasının bu hastalıklara yol açtığını göz önünde bulundurulduğunda miRNA seviyesini düzenleyecek alkole bağlı meydana gelen moleküler yollara bağlı hastalıkların ilerlemesi durdurulabilir. Hatta hastalıkta gerilemelere sebep olabilir.

Yapmış olduğumuz çalışmanın sonucunda miR-124, -125b ve -399 seviyelerinin erkek bireylerin frontal korteks bölgesinde alkol kullanım bozukluğuna bağlı olarak anlamlı derecede azaldıkları tespit edilmiştir. Daha önce de değinildiği üzere bu miRNA'ların hedef aldığı moleküllerin anlatımlarında artış glioblastoma, AH ve şizofreni gibi merkezi sinir sistemi kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. Dolayısı ile alkol tedavisi uygulanırken alkolün bireyde oluşturduğu diğer dejenerasyonlar miR-124, -125b ve -339'un da içinde yer aldığı miRNA seviyesini düzene sokabilecek tedavi yöntemleri ilerleyen çalışmalarda geliştirilebilir ve böylece miRNA etkili hastalıkların önüne geçilmesi mümkün kılınabilir. Ancak miRNA seviyesinde anormal artışların farklı hastalıklara da yol açabileceği de dikkate alınırsa miRNA tedavisinde doz ayarını iyi belirlemek gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Enoch M, Goldman D. Molecular and Cellular Genetics of Alcohol Addiction. *Neuropsychopharmacol Fifth Gener Prog.* 2002;(12):1413–23.
2. Ponomarev I. Epigenetic control of gene expression in the alcoholic brain. *Alcohol Res.* 2013;35(1):69–76.
3. Janeczek P, Lewohl JM. The role of α -synuclein in the pathophysiology of alcoholism. *Neurochem Int.* Elsevier Ltd; 2013;63(3):154–62.
4. Heath a C, Bucholz KK, Madden P a, Dinwiddie SH, Slutske WS, Bierut LJ, et al. Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: consistency of findings in women and men. *Psychol Med.* 1997;27(6):1381–96.
5. Yoshimoto K, Yayama K, Sorimachi Y, Tani J, Ogata M, Nishimura A, et al. Possibility of 5-HT₃ receptor involvement in alcohol dependence: a microdialysis study of nucleus accumbens dopamine and serotonin release in rats with chronic alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res.* 1996 Dec;20(9 Suppl):311A – 319A.
6. Markou A, Kosten TR, Koob GF. Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology.* 1998 Mar;18(3):135–74.
7. Sass H, Soyka M, Mann K, Zieglgänsberger W. Relapse prevention by acamprosate. Results from a placebo-controlled study on alcohol dependence. *Arch Gen Psychiatry.* 1996 Aug;53(8):673–80.
8. Phillips TJ, Brown KJ, Burkhart-Kasch S, Wenger CD, Kelly MA, Rubinstein M, et al. Alcohol preference and sensitivity are markedly reduced in mice lacking dopamine D₂ receptors. *Nat Neurosci.* 1998 Nov;1(7):610–5.
9. Flatscher-Bader T, Wilce P a. The effect of alcohol and nicotine abuse on gene expression in the brain. *Nutr Res Rev.* 2009;22:148–62.
10. Kye MJ, Neveu P, Lee YS, Zhou M, Steen J a., Sahin M, et al. NMDA mediated contextual conditioning changes miRNA expression. *PLoS One.* 2011;6(9):1–15.
11. Rajasethupathy P, Fiumara F, Sheridan R, Betel D, Puthanveetil S V, Russo JJ, et al. Characterization of small RNAs in *Aplysia* reveals a role for miR-124 in constraining synaptic plasticity through CREB. *Neuron.* 2009;63(6):803–17.
12. Ungerer M, Knezovich J, Ramsay M. In utero alcohol exposure, epigenetic changes, and their consequences. *Alcohol Res.* 2013;35(1):37–46.

13. Sathyan P, Golden HB, Miranda RC. Competing interactions between microRNAs determine neural progenitor survival and proliferation after ethanol exposure: evidence from an ex vivo model of the fetal cerebral cortical neuroepithelium. *J Neurosci*. 2007 Aug 8;27(32):8546–57.
14. Zhang Y, Wei G, Di Z, Zhao Q. miR-339-5p inhibits alcohol-induced brain inflammation through regulating NF-kappa B pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. Elsevier Inc.; 2014;452(3):450–6.
15. Tapocik JD, Barbier E, Flanigan M, Solomon M, Pincus A, Pilling A, et al. microRNA-206 in rat medial prefrontal cortex regulates BDNF expression and alcohol drinking. *J Neurosci*. 2014;34(13):4581–8.
16. Lee S-T, Chu K, Jung K-H, Kim JH, Huh J-Y, Yoon H, et al. miR-206 regulates brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer disease model. *Ann Neurol*. 2012;72(2):269–77.
17. Ghasemi M, Schachter SC. The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy Behav*. Elsevier Inc.; 2011;22(4):617–40.
18. Kash TL, Matthews RT, Winder DG. Alcohol inhibits NR2B-containing NMDA receptors in the ventral bed nucleus of the stria terminalis. *Neuropsychopharmacology*. 2008 May;33(6):1379–90.
19. Vallelunga A, Ragusa M, Di Mauro S, Iannitti T, Pilleri M, Biundo R, et al. Identification of circulating microRNAs for the differential diagnosis of Parkinson's disease and Multiple System Atrophy. *Front Cell Neurosci*. 2014 Jan;8:156.
20. Carter, A. Wayne C. ADDICTION NEUROETHICS: The Promises and Perils of Neuroscience Research on Addiction. Igarss 2014. 2014. 1-5 p.
21. Introducing addiction | Big Picture [Internet]. 2010 [cited 2016 Apr 8]. Available from: <http://bigpictureeducation.com/introducing-addiction>
22. Shannon JB. Health Reference Series: Alcoholism Sourcebook. Omnigraphics; 2010.
23. Dasgupta A. The Science of Drinking: How Alcohol Affects Your Body and Mind. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. New York: ROWMAN & LITTLEFIELD PUBLISHERS, INC.; 2011.
24. Kranzler HR, Ciraulo DA. Alcohol. In: Kranzler HR, Ciraulo DA, editors. *Clinical Manual of Addiction Psychopharmacology*. 1st ed. Washington, DC London, England: American Psychiatric Publishing, Inc.; 2005. p. 1–54.

25. Breton MD. In Silico Models of Alcohol Kinetics: A Deterministic Approach. In: Johnson BAA, editor. *Addiction Medicine Science and Practice*. New York: Springer Science+Business Media; 2011. p. 2477–95.
26. Yin S-J, Agarwal DP. Functional Polymorphism of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenases: Alcohol Metabolism, Alcoholism, and Alcohol-Induced Organ Damage. In: Agarwal DP, Seitz HK, editors. *Alcohol in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2001. p. 1–26.
27. Carmichael O, Lockhart S. The Role of Diffusion Tensor Imaging in the Study of Cognitive Aging. *Brain Imaging Behav Neurosci*. 2012;(November 2011):289–320.
28. Kalyoncu A, Mirsal H. Alkol Kullanım Bozuklukları. *Psikiyatır Dünyası*. 2000;4:22–30.
29. GÜLTEKİN BK, Dereboy F. Üniversite Öğrencilerinde Sosyal Fobinin Yaygınlığı ve Sosyal Fobinin Yaşam Kalitesi , Akademik Başarı ve. 2011;22(3):150–8.
30. Bushman BJ. Effects of alcohol on human aggression. Validity of proposed explanations. *Recent Dev Alcohol*. 1997 Jan;13:227–43.
31. Allgaier C. Ethanol sensitivity of NMDA receptors. *Neurochem Int*. 2002;41(6):377–82.
32. Lovinger DM, Roberto M. Synaptic effects induced by alcohol. *Curr Top Behav Neurosci*. 2013 Jan;13:31–86.
33. Yesilay Dergisi, sayı:983 [Internet]. 2015 [cited 2016 Apr 2]. p. 14. Available from: http://www.yesilay.org.tr/yesilaydergisi/Aralik_2015/index.html
34. Carey J. Brain facts:A Primer On The Brain And Nervous Sysyem. *Soc Neurosci*. 2003;1–58.
35. Swanson LW. *Brain architecture : understanding the basic plan*. 2003. p. xv, 263 s.
36. Longstaff A. *Bios Instant Notes: Neuroscience*. second. Hames BD, editor. *Journal of Biological Education*. Taylor & Francis Group; 2005.
37. Siegel A, Sapru HN. *Essential Neuroscience*. third. Vol. 1, PhD Proposal. 2015.
38. Fallis A. *Neuroscience for Dummies*. Hickey R, editor. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. John Wiley & Sons Canada Ltd.; 2013. 23-46 p.

39. Inside The Brain [Internet]. 2011 [cited 2016 Apr 2]. Available from: [https://bigpictureeducation.com/sites/default/files/bp_files/inside the brain/wts041077~1.pdf](https://bigpictureeducation.com/sites/default/files/bp_files/inside_the_brain/wts041077~1.pdf)
40. Cservenka A, Nagel BJ. Neurocognition and Brain Abnormalities among Adolescent Alcohol and Drug Users. In: Wilson SJ, editor. *The Wiley Handbook on the Cognitive Neuroscience of Addiction*. UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2015. p. 311–32.
41. Dalmay T, Bartel DP, Yekta S, Shih IH, Bartel DP, Dalmay T, et al. Mechanism of miRNA-mediated repression of mRNA translation. *Essays Biochem*. Portland Press Limited; 2013;54(2):29–38.
42. Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol*. 2004;5(3):R13.
43. Mishima T, Mizuguchi Y, Kawahigashi Y, Takizawa T, Takizawa T. RT-PCR-based analysis of microRNA (miR-1 and -124) expression in mouse CNS. *Brain Res*. 2007;1131:37–43.
44. Zhao N, Han D, Liu Y, Li Y, Zeng L, Wang Y, et al. DLX3 negatively regulates osteoclastic differentiation through microRNA-124. *Exp Cell Res*. Elsevier; 2016;341(2):166–76.
45. Zhao Y, Ma T, Chen W, Chen Y, Li M, Ren L, et al. MicroRNA-124 Promotes Intestinal Inflammation by Targeting Aryl Hydrocarbon Receptor in Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2016;703–12.
46. Zhang YH, Wang QQ, Li H, Ye T, Gao F, Liu YC. miR-124 radiosensitizes human esophageal cancer cell TE-1 by targeting CDK4. *Genet Mol Res*. 2016;15(2):1–10.
47. Feng T, Xu D, Tu C, Li W, Ning Y, Ding J, et al. miR-124 inhibits cell proliferation in breast cancer through downregulation of CDK4. *Tumor Biol*. 2015;36(8):5987–97.
48. Chen Z, Liu S, Tian L, Wu M, Ai F, Tang W, et al. miR-124 and miR-506 inhibit colorectal cancer progression by targeting DNMT3B and DNMT1. *Oncotarget*. 2015;6(35).
49. Pokutta S, Weis WI. Structure and Mechanism of Cadherins and Catenins in Cell-Cell Contacts. *Annu Rev Cell Dev Biol*. Annual Reviews; 2007;23:237–61.
50. Ma T, Zhao Y, Wei K, Yao G, Pan C, Liu B, et al. MicroRNA-124 Functions as a Tumor Suppressor by Regulating CDH2 and Epithelial-Mesenchymal

- Transition in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(4):1563–74.
51. van Roy F. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer. *Nat Rev Cancer*. Nature Research; 2014 Jan 20;14(2):121–34.
 52. Jiang L, Lin T, Xu C, Hu S, Pan Y, Jin R. miR-124 interacts with the Notch1 signalling pathway and has therapeutic potential against gastric cancer. *J Cell Mol Med*. 2016;20(2):313–22.
 53. Li X, Yu Z, Li Y, Liu S, Gao C, Hou X, et al. The tumor suppressor miR-124 inhibits cell proliferation by targeting STAT3 and functions as a prognostic marker for postoperative NSCLC patients. *Int J Oncol*. 2015;46(2):798–808.
 54. Lu Y, Yue X, Cui Y, Zhang J, Wang K. MicroRNA-124 suppresses growth of human hepatocellular carcinoma by targeting STAT3. *Biochem Biophys Res Commun*. Elsevier Inc.; 2013;441(4):873–9.
 55. Shao Q, Jiang W, Jin Y. MiR-124 effect in neurons apoptosis in newborn rat with thyroid hypofunction. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(11):14465–71.
 56. Antony N, McDougall AR, Mantamadiotis T, Cole TJ, Bird AD. Creb1 regulates late stage mammalian lung development via respiratory epithelial and mesenchymal-independent mechanisms. *Sci Rep*. Nature Publishing Group; 2016;6(April):25569.
 57. Alberini CM. Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiol Rev*. American Physiological Society; 2009 Jan;89(1):121–45.
 58. Fischbach SJ, Carew TJ. MicroRNAs in Memory Processing. *Neuron*. Elsevier Inc.; 2009;63(6):714–6.
 59. Wang W, Wang X, Chen L, Zhang Y, Xu Z, Liu J, et al. The microRNA miR-124 suppresses seizure activity and regulates CREB1 activity. *Expert Rev Mol Med*. 2016;18.
 60. Zhang X, Huang X, Fang C, Li Q, Cui J, Sun J, et al. miR-124 Regulates the Expression of BACE1 in the Hippocampus Under Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Mol Neurobiol*. 2016;
 61. Hui L, Rao W-W, Yu Q, Kou C, Wu JQ, He JC, et al. TCF4 gene polymorphism is associated with cognition in patients with schizophrenia and healthy controls. *J Psychiatr Res*. Elsevier; 2015 Oct;69:95–101.
 62. Han SM, Na HY, Ham O, Choi W, Sohn M, Ryu SH, et al. TCF4-Targeting miR-124 is Differentially Expressed amongst Dendritic Cell Subsets. *Immune Netw*. 2016;16(1):61–74.

63. Yang S, Pei Y, Li X, Zhao S, Zhu M, Zhao A. miR-124 attenuates Japanese encephalitis virus replication by targeting DNMT2. *Virology Journal*; 2016;13:105.
64. Gu X, Meng S, Liu S, Jia C, Fang Y, Li S, et al. miR-124 represses ROCK1 expression to promote neurite elongation through activation of the PI3K/Akt signal pathway. *J Mol Neurosci*. 2014;52(1):156–65.
65. Wang Y, Wang D, Guo D. MiR-124 promote neurogenic transdifferentiation of adipose derived mesenchymal stromal cells partly through RhoA/ROCK1, but not ROCK2 signaling pathway. *PLoS One*. 2016;11(1):1–15.
66. Gu X, Li A, Liu S, Lin L, Xu S, Zhang P, et al. MicroRNA124 Regulated Neurite Elongation by Targeting OSBP. *Mol Neurobiol*. 2015;1–9.
67. Xue Q, Yu C, Wang Y, Liu L, Zhang K, Fang C, et al. miR-9 and miR-124 synergistically affect regulation of dendritic branching via the AKT/GSK3 β pathway by targeting Rap2a. *Sci Rep*. Nature Publishing Group; 2016;6(February):26781.
68. Jun JH, Joo C. MicroRNA-124 Controls Transforming Growth Factor β 1 – Induced Epithelial – Mesenchymal Transition in the Retinal Pigment Epithelium by Targeting RHOA. 2016;
69. Schumacher S, Franke K. miR-124-regulated RhoG. *Small GTPases*. 2013;4(1):42–6.
70. Lv Z, Yang L. MiR-124 inhibits the growth of glioblastoma through the downregulation of SOS1. *Mol Med Rep*. 2013;8(2):345–9.
71. Villela D, Ramalho RF, Silva AR, Brentani H, Suemoto CK, Pasqualucci CA, et al. Differential DNA Methylation of MicroRNA Genes in Temporal Cortex from Alzheimer's Disease Individuals. *Neural Plast*. Hindawi Publishing Corporation; 2016;2584940.
72. Tenga A, Beard JA, Takwi A, Wang YM, Chen T. Regulation of nuclear receptor Nur77 by miR-124. *PLoS One*. 2016;11(2):1–22.
73. Santos MCT, Tegge AN, Correa BR, Mahesula S, Kohnke LQ, Qiao M, et al. MiR-124, -128, and -137 Orchestrate Neural Differentiation by Acting on Overlapping Gene Sets Containing a Highly Connected Transcription Factor Network. *Stem Cells*. 2016;34(1):220–32.
74. Yu JY, Chung KH, Deo M, Thompson RC, Turner DL. MicroRNA miR-124 regulates neurite outgrowth during neuronal differentiation. *Exp Cell Res*. 2008;314:2618–33.

75. Makeyev E V., Zhang J, Carrasco MA, Maniatis T. The MicroRNA miR-124 Promotes Neuronal Differentiation by Triggering Brain-Specific Alternative Pre-mRNA Splicing. *Mol Cell*. 2007;27(3):435–48.
76. Wang C, Feng T, Wan Q, Kong Y, Yuan L. miR-124 controls *Drosophila* behavior and is required for neural development. *Int J Dev Neurosci*. International Society for Developmental Neuroscience; 2014;38:105–12.
77. Sun Y, Gui H, Li Q, Luo ZM, Zheng MJ, Duan JL, et al. MicroRNA-124 protects neurons against apoptosis in cerebral ischemic stroke. *CNS Neurosci Ther*. 2013;19:813–9.
78. Nagata K, Hama I, Kiryu-Seo S, Kiyama H. MicroRNA-124 is down regulated in nerve-injured motor neurons and it potentially targets mRNAs for KLF6 and STAT3. *Neuroscience*. IBRO; 2014;256(November 2013):426–32.
79. Cisneros-Soberanis F, Andonegui MA, Herrera LA. miR-125b-1 is repressed by histone modifications in breast cancer cell lines. *Springerplus*. Springer International Publishing; 2016;5(1):959.
80. Le MTN, Xie H, Zhou B, Chia PH, Rizk P, Um M, et al. MicroRNA-125b promotes neuronal differentiation in human cells by repressing multiple targets. *Mol Cell Biol*. 2009;29(19):5290–305.
81. Le MTN, Teh C, Shyh-Chang N, Xie H, Zhou B, Korzh V, et al. MicroRNA-125b is a novel negative regulator of p53. *Genes Dev*. 2009;23:862–76.
82. Jin Z, Xu S, Yu H, Yang B, Zhao H, Zhao G. miR-125b Inhibits Connexin43 and Promotes Glioma Growth. *Cell Mol Neurobiol*. 2013;33:1143–8.
83. Li X, Zheng J, Chen L, Diao H, Liu Y. Predictive and Prognostic Roles of Abnormal Expression of Tissue miR-125b, miR-221, and miR-222 in Glioma. *Mol Neurobiol*. 2014;
84. Chang S, He S, Qiu G, Lu J, Wang J, Liu J, et al. MicroRNA-125b promotes invasion and metastasis of gastric cancer by targeting STARD13 and NEU1. *Tumour Biol*. *Tumor Biology*; 2016;
85. Ching Y-P, Wong C-M, Chan S-F, Leung TH-Y, Ng DC-H, Jin D-Y, et al. Deleted in liver cancer (DLC) 2 encodes a RhoGAP protein with growth suppressor function and is underexpressed in hepatocellular carcinoma. *J Biol Chem*. 2003 Mar 21;278(12):10824–30.
86. Alpha6 Beta4 Integrin Signaling Pathway [Internet]. [cited 2016 Jul 26]. Available from: http://www.netpath.org/netslim/alpha6beta4_pathway.html

87. Hong L, Pan F, Jiang H, Zhang L, Liu Y, Cai C, et al. miR-125b inhibited epithelial-mesenchymal transition of triple-negative breast cancer by targeting MAP2K7. *Oncotargets Ther.* 2016;9:2639–48.
88. Compagnone NA, Zhang P, Vigne J. Novel Role for the Nuclear Phosphoprotein SET in Transcriptional Activation of P450c17 and Initiation of Neurosteroidogenesis. *2000;14:875–88.*
89. Ying X, Wei K, Lin Z, Cui Y, Ding J, Chen Y, et al. MicroRNA-125b Suppresses Ovarian Cancer Progression via Suppression of the Epithelial-Mesenchymal Transition Pathway by Targeting the SET Protein. *Cell Physiol Biochem.* 2016;501–10.
90. Li Q, Wu Y, Zhang Y, Sun H, Lu Z, Du K, et al. miR-125b regulates cell progression in chronic myeloid leukemia via targeting BAK1. *2016;(30870094):1283–8.*
91. Alonso EN, Orozco M, Eloy Nieto A, Balogh GA. Genes related to suppression of malignant phenotype induced by Maitake D-Fraction in breast cancer cells. *J Med Food.* 2013;16(7):602–17.
92. Mayr F, Heinemann U. Mechanisms of Lin28-mediated miRNA and mRNA regulation--a structural and functional perspective. *Int J Mol Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI);* 2013;14(8):16532–53.
93. Stefani G, Chen X, Zhao H, Slack FJ. A novel mechanism of LIN-28 regulation of let-7 microRNA expression revealed by *in vivo* HITS-CLIP in *C. elegans*. *RNA. Cold Spring Harbor Laboratory Press;* 2015 May;21(5):985–96.
94. Hao J, Zhang C, Zhang A, Wang K, Zhifan JA, Wang G, et al. miR-221/222 is the regulator of Cx43 expression in human glioblastoma cells. *Oncol Rep.* 2012;27(5):1504–10.
95. Brown CJ, Lain S, Verma CS, Fersht AR, Lane DP. Awakening guardian angels: drugging the p53 pathway. *Nat Rev Cancer.* 2009 Dec;9(12):862–73.
96. Ma G, Wang Y, Li Y, Cui L, Zhao Y, Zhao B, et al. MiR-206, a Key Modulator of Skeletal Muscle Development and Disease. *Int J Biol Sci.* 2015;11(3):345–52.
97. Miura P, Amirouche A, Clow C, Bélanger G, Jasmin BJ. Brain-derived neurotrophic factor expression is repressed during myogenic differentiation by miR-206. *J Neurochem.* 2012;120(2):230–8.
98. Hansen T, Olsen L, Lindow M, Jakobsen KD, Ullum H, Jonsson E, et al. Brain expressed microRNAs implicated in schizophrenia etiology. *PLoS One.* 2007;2(9):e873.

99. Tian N, Cao Z, Zhang Y. MiR-206 decreases brain-derived neurotrophic factor levels in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Bull.* 2014;30(2):191–7.
100. Laske C, Eschweiler GW. Brain-derived neurotrophic factor. *Nervenarzt.* Springer-Verlag; 2006 May;77(5):523–37.
101. Lennon FE, Singleton PA. Opioid Regulation of Vascular Integrity. In: *Morphine and Metastasis.* Dordrecht: Springer Netherlands; 2013. p. 47–61.
102. Binyaminy B, Gafni M, Shapira M, Sarne Y. Agonist-specific down regulation of mu-opioid receptors: Different cellular pathways are activated by different opioid agonists. *Life Sci.* 2008;82(15-16):831–9.
103. Wu Q, Hwang CK, Zheng H, Wagley Y, Lin HY, Kim DK, et al. MicroRNA 339 down-regulates mu-opioid receptor at the post-transcriptional level in response to opioid treatment. *Faseb J.* 2013;27(2):522–35.
104. Pinto AE, Andrade S, Silva G, Vieira S, Santos AC, Dias S, et al. BCL-6 Oncoprotein in Breast Cancer: Loss of Expression in Disease Progression. *Pathobiology.* 2009;76(5):235–42.
105. Logarajah S, Hunter P, Kraman M, Steele D, Lakhani S, Bobrow L, et al. BCL-6 is expressed in breast cancer and prevents mammary epithelial differentiation. *Oncogene.* Nature Publishing Group; 2003 Aug 28;22(36):5572–8.
106. Chang CC, Ye BH, Chaganti RS, Dalla-Favera R. BCL-6, a POZ/zinc-finger protein, is a sequence-specific transcriptional repressor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(14):6947–52.
107. Bos R, Diest PJ van, Groep P van der, Greijer AE, Hermsen MAJA, Heijnen I, et al. Protein expression of B-cell lymphoma gene 6 (BCL-6) in invasive breast cancer is associated with cyclin D1 and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α). *Oncogene.* Nature Publishing Group; 2003 Dec 4;22(55):8948–51.
108. Shan W, Li J, Bai Y, Lu X. miR-339-5p inhibits migration and invasion in ovarian cancer cell lines by targeting NACC1 and BCL6. *Tumour Biol.* 2016 Apr;37(4):5203–11.
109. Zhou C, Liu G, Wang L, Lu Y, Yuan L, Zheng L, et al. MiR-339-5p Regulates the Growth, Colony Formation and Metastasis of Colorectal Cancer Cells by Targeting PRL-1. *PLoS One.* 2013;8(5):1–10.
110. Bai Y, Luo Y, Liu S, Zhang L, Shen K, Dong Y, et al. PRL-1 protein promotes ERK1/2 and RhoA protein activation through a non-canonical interaction with the Src homology 3 domain of p115 Rho GTPase-activating protein. *J Biol Chem.* 2011 Dec 9;286(49):42316–24.

111. Long JM, Ray B, Lahiri DK. MicroRNA-339-5p down-regulates protein expression of ??-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 (BACE1) in human primary brain cultures and is reduced in brain tissue specimens of alzheimer disease subjects. *J Biol Chem*. 2014;289(8):5184–98.
112. Dhiraj DK, Chrysanthou E, Mallucci GR, Bushell M. miRNAs-19b, -29b-2* and -339-5p show an early and sustained up-regulation in ischemic models of stroke. *PLoS One*. 2013;8(12):e83717.
113. Mehta AJ. Alcoholism and critical illness: A review. *World J Crit care Med*. Baishideng Publishing Group Inc; 2016 Feb 4;5(1):27–35.
114. Gerke P, Hapke U, Rumpf HJ, John U. Alcohol-related diseases in general hospital patients. *Alcohol Alcohol*. The Oxford University Press; 1997;32(2):179–84.
115. Squeglia LM, Gray KM. Alcohol and Drug Use and the Developing Brain. *Curr Psychiatry Rep*. 2016 May;18(5):46.
116. Cai J-J, Qi Z-X, Chen L-C, Yao Y, Gong Y, Mao Y. miR-124 suppresses the migration and invasion of glioma cells *in vitro* via Capn4. *Oncol Rep*. 2016 Jan;35(1):284–90.
117. Gong X, Wang H, Ye Y, Shu Y, Deng Y, He X, et al. miR-124 regulates cell apoptosis and autophagy in dopaminergic neurons and protects them by regulating AMPK/mTOR pathway in Parkinson's disease. *Am J Transl Res*. 2016;8(5):2127–37.
118. He Y, Zhao C, Liu Y, He Z, Zhang Z, Gao Y, et al. MiR-124 Functions as a Tumor Suppressor via Targeting hCLOCK1 in Glioblastoma. *Mol Neurobiol*. 2016 Mar 11;
119. Kong Y, Wu J, Zhang D, Wan C, Yuan L. The Role of miR-124 in Drosophila Alzheimer's Disease Model by Targeting Delta in Notch Signaling Pathway. *Curr Mol Med*. 2015;15(10):980–9.
120. Gedik H, Erdal ME, Yilmaz SG, Sengul C, Sengul CB, Herken H. Association of microRNA biogenesis pathway gene variants and alcohol dependence risk. *DNA Cell Biol*. 2015 Mar;34(3):220–6.
121. Wu N, Lin X, Zhao X, Zheng L, Xiao L, Liu J, et al. MiR-125b acts as an oncogene in glioblastoma cells and inhibits cell apoptosis through p53 and p38MAPK-independent pathways. *Br J Cancer*. 2013 Nov 26;109(11):2853–63.
122. Chen J, Fu X, Wan Y, Wang Z, Jiang D, Shi L. miR-125b inhibitor enhance the chemosensitivity of glioblastoma stem cells to temozolomide by targeting Bak1. *Tumor Biol*. Springer Netherlands; 2014 Jul;35(7):6293–302.

123. Tan L, Yu J-T, Liu Q-Y, Tan M-S, Zhang W, Hu N, et al. Circulating miR-125b as a biomarker of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci. Elsevier*; 2014 Jan 15;336(1-2):52–6.
124. Micheli F, Palermo R, Talora C, Ferretti E, Vacca A, Napolitano M. Regulation of proapoptotic proteins Bak1 and p53 by miR-125b in an experimental model of Alzheimer's disease: protective role of 17 β Estradiol. *Neurosci Lett*. 2016;
125. Chen X, Liu J, Feng W, Wu X, Chen S. MiR-125b protects against ethanol-induced apoptosis in neural crest cells and mouse embryos by targeting Bak 1 and PUMA. *Exp Neurol*. 2015;271:104–11.
126. Jansson MD, Damas ND, Lees M, Jacobsen A, Lund AH. miR-339-5p regulates the p53 tumor-suppressor pathway by targeting MDM2. *Oncogene*. 2015 Apr 9;34(15):1908–18.
127. BEŞİRLİ H. Gençlerin alkol tüketim davranışları ve bu davranışlarını etkileyen faktörlerin sosyolojik analizi.

HAM VERİLER

DENEY GRUBU Real-Time PCR SONUÇLARI					
Örnek Nu.	RNU	miR-124	miR-125b	miR-339	miR-206
112	14,91	15,39	17,95	22,32	25,67
164	15,82	15,90	15,09	24,45	26,66
401	16,19	15,76	15,69	24,74	31,13
403	17,48	15,97	14,16	22,80	27,83
413	16,71	14,45	15,56	22,74	24,01
456	16,63	13,95	13,20	20,83	27,17
476	16,16	14,57	14,05	24,41	25,34
3776	14,74	22,18	20,71	29,63	31,67
3928	16,98	18,60	18,21	27,06	28,55
3983	17,62	19,81	19,95	28,74	30,61
4004	14,43	18,32	17,55	26,65	29,56
4010	25,22	23,31	22,59	31,02	31,79
4013	13,93	17,34	16,08	24,34	28,70
4022	19,14	16,19	15,70	23,71	29,11
4025	15,99	18,74	18,16	27,09	32,47
4107	16,20	19,30	20,04	30,43	35,57
4110	18,37	18,29	19,46	28,23	34,19
4111	18,75	24,61	25,23	34,07	35,23
4116	19,10	16,30	15,20	25,23	30,61
4262	17,04	15,39	15,43	26,95	31,79
4298	22,38	19,90	19,82	28,27	31,91
4344	18,82	19,26	20,37	27,45	29,29
4359	21,15	18,35	17,49	25,78	26,97
4400	17,78	16,83	16,76	23,44	22,78
4591	18,15	20,09	21,62	26,97	27,46
4659	16,28	18,71	18,31	25,36	30,96
4778	16,75	19,26	18,84	28,51	29,96
4782	16,22	19,58	19,83	29,22	30,48
4871	20,03	18,37	17,08	25,65	27,20
4910	19,50	18,29	18,41	27,28	29,49

KONTROL GRUBU Real-Time PCR SONUÇLARI					
Örnek Nu.	RNU	miR-124	miR-125b	miR-339	miR-206
278	21,68	14,93	13,69	22,48	29,20
376	17,10	15,29	14,38	22,00	29,95
393	17,49	14,66	13,99	22,71	28,51
394	24,94	21,07	21,33	32,38	33,53
395	16,94	13,51	13,67	21,58	29,17
397	15,34	12,13	12,30	20,53	28,26
399	23,81	14,88	16,07	24,62	33,42
402	22,21	18,72	16,53	24,61	32,38
404	17,04	15,13	15,91	23,79	30,30
405	23,78	19,50	17,80	24,90	31,25
406	18,69	14,43	14,88	23,64	29,59
408	16,94	14,54	13,74	22,79	30,12
411	18,88	15,43	13,42	22,29	26,42
415	18,28	13,87	13,01	20,63	28,73
416	15,97	14,60	12,46	21,04	27,94
417	16,98	14,33	13,29	21,05	28,00
445	19,82	17,35	15,97	25,40	28,18
449	17,86	12,87	14,21	22,88	29,30
450	25,81	16,11	18,07	26,59	33,43
452	25,79	22,11	22,82	30,98	31,92
454	18,54	15,56	14,47	23,34	30,48
458	21,24	17,11	16,04	26,60	31,41
472	17,52	13,98	14,38	22,71	22,52
473	17,97	16,53	14,62	24,70	29,15
474	23,37	18,93	19,62	27,82	32,70
475	19,03	16,13	12,32	22,64	22,45
495	19,24	13,96	14,25	22,64	30,57
498	25,24	17,81	17,64	27,56	28,40
500	19,65	13,77	12,86	23,41	29,23
4255	21,62	16,48	15,41	25,75	32,78

FORMLAR

ALKOL KULLANIM BOZUKLUĞU

Örnek No:

Tarih:

1-Bireyin Yaşı:

2-Cinsiyeti:

3-Ölüm Tarihi:

4-Bireyin alkole başlama yaşı:

5-Birey ne sıklıkla alkol kullanırdı?

- Hemen Hergün Haftada 3-5 gün
 Haftada bir Haftada 1-2 gün
 Ayda 2-3 gün Daha seyrek

6-Genellikle ne tür alkol kullanırdı? (birden çok şık işaretlenebilir)

- sert içkiler (rakı, votka, viski, cin vb) şarap (şampanya dahil) bira diğer (belirtiniz)

7-Alkol kullandığı günler genellikle ne kadar alkol alırdı?

(hangi içkiyi ne miktarda içtiği, kadeh, tek, duble, şişe, kutu vb)

8-Alkole bağlı ailevi, mesleki, sağlıkla ilgili ya da yasal bir problem yaşamış mıydı?

Evetse lütfen tanımlayınız.

(örnek: eşiyle bu yüzden tartışmaları olurdu, içki alınca sabah işe geç kaldığı olurdu, içince agresif olurdu vb)

9-En son ne zaman alkol tükettiğini biliyorsunuz?

- Vefat Ettiği gün Vefattan Önceki Son birkaç Gün İçinde
 Vefattan yaklaşık 1 hafta önce Vefattan yaklaşık 10-15 gün önce
 Vefattan en az 1 ay önce

10-Kişi daha az bir miktar ya da süre içmeyi istediği halde bu miktar ya da süreyi çok aştığı olur muydu? (başlayınca duramama)

- Evet Hayır Bilmiyorum

11-Kişi alkolü bırakmayı ya da azaltmayı denediği halde yine alkol kullanmaya başladığı oldu mu? (bırakacağına ya da azaltacağına söz verip sonra yine aynı şekilde içme)

- Evet Hayır Bilmiyorum

12-Kişi alkol kullanmaya çok zaman ayırır mıydı?

- Evet Hayır Bilmiyorum

13-Kişi alkol kullanmak için çok istek duyar mıydı?

Evet Hayır Bilmiyorum

14-Kişinin isteği, okuldaki ya da evdeki yükümlülüklerini yerine getiremeyecek şekilde tekrarlayan alkol kullanımı olur muydu? (akşam alkol aldığı için ertesi gün işe geç gitme, randevularını aksatma vb)

Evet Hayır Bilmiyorum

15-Kişi alkolün neden olduğu yineleyici toplumsal ya da kişilerarası sorunlar yaşar mıydı? (Eş ile tartışma ya da arkadaşlarıyla sorun yaşama vb)

Evet Hayır Bilmiyorum

16-Kişi alkol kullanımından ötürü önemli birtakım toplumsal, işle ilgili etkinlikleri ya da eğlenme-dinlenme etkinliklerini bıraktı mı ya da azalttı mı? (örneğin içemeyeceği sosyal ortamlara katılmama, sporu ya da hobilerini bırakma vb)

Evet Hayır Bilmiyorum

17-Kişinin yineleyici bir biçimde, tehlikeli olabilecek durumlarda madde kullanımı olur muydu? (alkollü araç kullanmak vb)

Evet Hayır Bilmiyorum

18-Alkole bağlı ya da alkolün şiddetlendirdiği bedensel ya da ruhsal bir rahatsızlığı olmasına rağmen alkol kullanmayı sürdürdü mü? (mide ya da karaciğer problemleri, panik ataklar vb)

Evet Hayır Bilmiyorum

19-Kişi alkole dayanıklı mıydı? Çok içse de etkilenmeme ya da yıllar içinde içtiği miktarın giderek artması söz konusu mu?

Evet Hayır Bilmiyorum

20-Kişi alkölü bıraktığı zaman ilk günlerde çarpıntı, titreme, bulantı, huzursuzluk, uyku bozukluğu gibi sorunlar yaşar mıydı?

Evet Hayır Bilmiyorum



ETİK KURUL KARARI

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Alkol Bağımlılığının İnsan Beyin Dokusundaki mikroRNA Ekspresyonu Üzerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

SAYI : 71306642/050-01-04 / 198

16.07.2014

KONU: Etik Kurulu Kararı

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Adnan Menderes Bulvarı Vatan caddesi 34093 Fatih/İstanbul
	TELEFON	(0212) 523 22 88 - 1028
	FAKS	(0212) 533 23 26
	E-POSTA	etikkurulu@bezmialem.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Hasan Hüseyin EKER			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Halk Sağlığı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi			
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma(akademik amaçlı)		<input checked="" type="checkbox"/> Analitik			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
OLGU RAPOR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Reha ERKOÇ

Sayfa 1 / 3

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Alkol Bağımlılığının İnsan Beyin Dokusundaki mikroRNA Ekspresyonu Üzerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	- Koordine eden araştırmacıya ait özeğmiş formu - Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKUR/İLU'ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname - Araştırma ile ilgili yayınlar
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 12 / 4	Tarih: 16.07.2014	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerle gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

BEZMIALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI Alkol Bağışlığının İnsan Beyin Dokusundaki mikroRNA Ekspresyonu Üzerine Etiksel
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU

BEZMIALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: Prof. Dr. Reha ERKOÇ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Reha ERKOÇ	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Faruk ÖKTEM	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Adem KIRIŞ	Radyoloji	Mehmet Akif Ersoy G.K.D.C Eğitim Araştırma Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ahmet MIHMANLI	Ağız-Diş ve Çene Cerrahisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hayrullah KÖSE	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KAYA	Tıbbi Farmakoloji	Düzce Üniversitesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL	Bioistatistik ve Tıp Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mahmut GÜRGAN	Deontoloji ve Tıp Tarihi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Mehmet AKHOROZ	Emekli	Kurum Dışı	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Avukat Şevkiye KARAHAN	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Karar: Onaylandı ReddedildiEtik Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Reha ERKOÇ

Sayfa 3 / 3