

# BÖLÜM 1

## MikroRNA'LAR VE VETERİNER HEKİMLİK

İbrahim ŞEKER<sup>1</sup>  
Abdurrahman KÖSEMAN<sup>2</sup>

### GİRİŞ

MikroRNA'lar (miRNA), mesajcı RNA (mRNA) çevirisini inhibe ederek veya mRNA bozulmasını teşvik ederek transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu (gen ifadesi) modüle etme kabiliyetine sahip küçük kodlamayan RNA'lardır (10). Etki mekanizması ve biyolojik işlevi nedeniyle son yirmi yılın ilgi odağı olarak gündeme gelen miRNA'lar, 21-25 nükleotid uzunluğunda genlerin endojen bir düzenleyicisi olarak 1993 yılında keşfedilmiştir (40, 54). miRNA'lar, metazoan hayvanlarda, bitkilerde, virüslerde ve bakterilerde bulunmaktadır (1). Günümüzde, miRNA izolasyonu, miRNA miktar tayini, miRNA profili oluşturma, miRNA hedef tespiti ve in vitro ve in vivo miRNA seviyelerini modüle etmek için çoklu teknolojik platformlar geliştirilmiştir (37).

Kanser, kardiyovasküler ve metabolik hastalıklar da dâhil olmak üzere sayısız fizyolojik süreç ve patolojinin sonucu büyük ölçüde miRNA'lara dayanır. Genetik polimorfizmler, miRNA promotörlerinin metilasyonu, asimetrik miRNA iplik seçimi, RNA bağlayıcı proteinler veya diğer kodlayıcı/kodlayıcı olmayan RNA'lar ile etkileşimler dâhil miRNA etkisini modüle etmek için çeşitli mekanizmalar tarif edilmiştir (10).

Yapılan araştırmalar, miRNA'ların kodlamayan RNA'ları da hedefleyebildiğini göstermektedir (uzun kodlamayan RNA'lar ve miRNA'lar dâhil). Bununla birlikte miRNA'ların kendi kendini düzenlemesi ve gen düzenlemesi üzerindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılammıştır (22).

Bazı hücre dışı miRNA'lar hücre yaralanması veya ölüm gibi hücresel aktivitelerin yan ürünleri olarak görülmekle birlikte, artan kanıtlar hücre dışı miRNA'ların salınmasının düzenlenmiş bir süreç olduğunu göstermektedir (8). Alandaki

---

1 Prof. Dr. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni AD., iseker52@gmail.com,

2 Doç. Dr., Turgut Özal Üniversitesi, Akçadağ Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, abdurrahman.koseman@ozal.edu.tr

gelişmeler  $\beta$ -hücreleri, karaciğer, iskelet ve kalp kası gibi metabolik sendromun gelişimi sırasında önemli olan ara metabolizmadaki ana dokuların yanı sıra yağ dokusunun hepsinin miRNA'lardan etkilendiği gösterilmiştir (53).

Kan veya kan bileşenleri (serum/plazma), dolaşımdaki miRNA'ların birincil kaynaklarıdır ve bunları, bazı protein bileşenlerine bağlı veya eksozom adı verilen mikro vezikül parçacıklarıyla kapsüllenmiş hücresiz formda serbest bırakabilir. miRNA'lar periferik dolaşımda oldukça kararlıdır ve qRT-PCR, mikrodizi ve dizileme gibi yüksek verimli tekniklerle tespit edilebilir. Hücre içi miRNA'lar, hedefe özgü bağlanma yoluyla mRNA aktivitesini modüle edebilir ve hücreler arası iletişimde çok önemli bir rol oynayabilir (30).

Günümüzde, miRNA'ların sadece hastalıklar için biyobelirteç değil, aynı zamanda hücreler arası iletişimde önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir. miRNA'lar konakçı hücrelerin aktivitesini düzenler ve ayrıca salgılanır ve alıcı hücrelere aktarılır. Birçok çalışma, hücre dışı miRNA'ların alıcı hücrelerde fonksiyonel olarak aktif olduğunu göstermiştir. Bu nedenle miRNA'ların hormon benzeri aktiviteleri vardır (41). Potansiyonel olarak gen veya protein sentez bozukluğu aracılı her hastalık, hücre tipi veya doku tipi; miRNA veya miRNA-RNAi tabanlı hedefleri oluşturabilirler (47).

İnsanlarda bebek formülündeki eksozomal miRNA'ların eksikliği ve inek sütü tüketimi yoluyla emzirme döneminden sonra süt miRNA'larının kalıcı alımı, insan sağlığı üzerinde uzun vadeli olumsuz etkilere neden olabilecek iki epigenetik anormalliktir (39). Ancak, sütün işlenmesi önemli düzeyde miRNA kaybına neden olmaktadır (25).

Son yıllarda, miRNA'nın özellikleri, yapısı, ekspresyonu, biyogenezi, insan ve hayvan sağlığında kullanılmasına yönelik araştırmalar önem kazanmıştır. Bu çalışma, miRNA'lara yönelik genel bilgileri aktarmak ve miRNA'ların veteriner hekimlikte ve hayvan sağlığında kullanımını hakkında bilgi sunmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

## **MİRNA'LAR VE GENİN SUSTURULMASI**

Kabul edilen değerlendirmelere göre, miRNA'lar mRNA ifadesini kontrol eder. miRNA'ların temel işlevi, translyasyonun inhibisyonu veya mRNA bozulması yoluyla gen susturulmasıdır (40). Gen susturulması ise bir genin genetik modifikasyon ile değil hücresel bir mekanizma tarafından işlevinin bastırılmasıdır. Post-transkripsiyonel gen susturulması, mRNA üzerinden protein sentezinin engellenmesiyle sağlanır. Bu mekanizmaya RNA interferansı (RNAi) denir. RNAi'de

gen susturulması, çift zincirli bir RNA molekülü (dsRNA) ile sağlanmaktadır. ds-RNA molekülü sitoplazmada veya çekirdek içerisinde Dicer ve Drosha enzimleriyle işlenerek etkili gen susturma ajanlarından birisi olan miRNA haline getirilir. Oluşan oligonükleotit, ilgilenilen gen bölgesini protein haline getirecek olan mRNA molekülünü parçalar ve gen susturulması sağlanmış olur (51). miRNA'lar, Argonaute proteinlerin klavuzluğunda genomik lokus veya hedef RNA'lara dizi spesifik bir düzende bağlanıp onları kesime uğratarak susturmaktadır (26).

miRNA'lar tarafından gen ifadenmesinin durdurulması yani susturulması birçok hastalığın gelişimini ve oluşumunu engelleyerek hastalıkların tedavisinde gelecek vaat etmektedir. Bu mekanizma aynı zamanda hücredeki herhangi bir genin fonksiyonunun belirlenmesinde de güçlü bir yöntem olarak kullanılmaktadır (51).

## **MİRNA'LARIN TRANSKRİPSİYONU, EKSPRESYONU, İŞLENMESİ VE BİYOGENEZİ**

DNA kalıbından RNA sentezlenmesine transkripsiyon denilmektedir. Transkripsiyon, hücre içi bilgi akışının ilk basamağı olduğu için önemlidir. Transkripsiyon sonucunda, ikili sarmal DNA'nın bir ipliğinin kopyası olan mRNA molekülü sentezlenir (2).

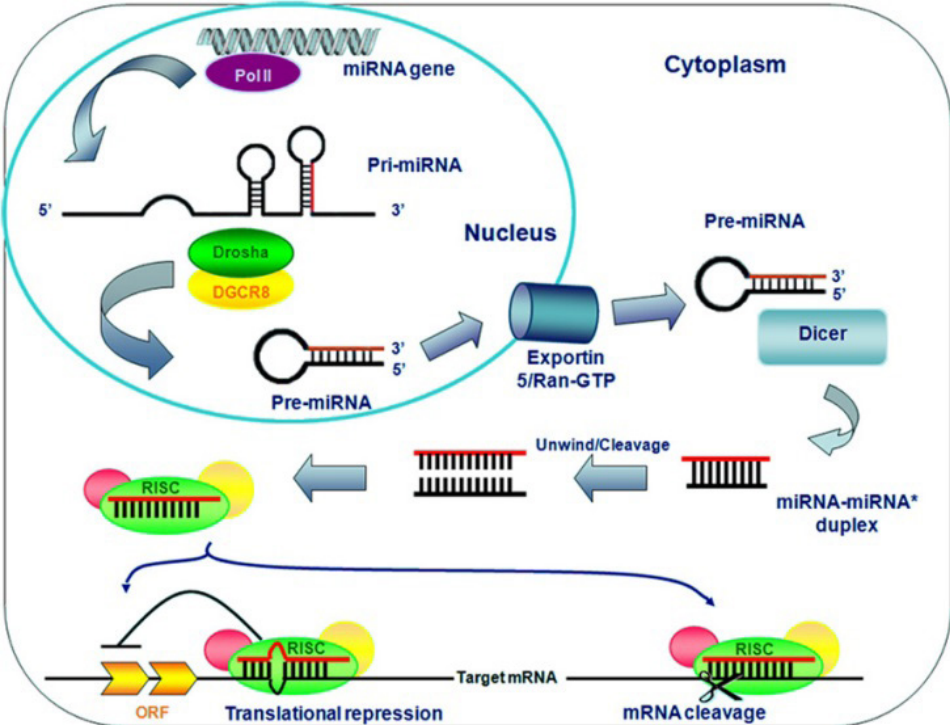
Gen ekspresyonu ise transkripsiyon işleminin tamamıdır (2). Tek bir gen ürünü etkilemekten ziyade bütün gen düzenleyici sistemi etkileyebilen miRNA'ların her biri çok sayıda hedef genin ekspresyonunu düzenler ve bir miRNA'nın ekspresyonunun değiştirilmesi umulmadık birçok geni etkileyebilir. Bu durumun tersi olarak, tek bir gen birçok miRNA tarafından düzenlenebilir, belirli bir miRNA'nın ekspresyonunun değiştirilmesi spesifik bir gen hedefini verimli şekilde etkileyebilir (46).

miRNA'ların işlenmesi ise birden fazla adımda düzenlenebilir ve miRNA seviyelerinin yükselmesine veya azalmasına yol açar. Değişen miRNA seviyeleri, miRNA işlemeyi etkileyen düzenleyici proteinlerden, miRNA transkriptinde edinilmiş varyasyonlardan ve nükleer taşıma verimliliğindeki değişikliklerden kaynaklanabilir. Bu düzenleyici mekanizmalara ek olarak tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) de miRNA işleme verimliliği üzerinde belirgin bir etkiye sahip olabilir (48).

Yapılan bir araştırmada, kümelenmiş miRNA'ların polisistronik olarak eksprese edildiğine ve en az iki ardışık adımda işlendiğine dair (pri-miRNA'lar olarak adlandırılan daha uzun transkriptlerden yaklaşık 70 nükleotid içeren pre-miR-

NA'nın üretilmesi ve pre-miRNA'ların olgun miRNA'lara işlenmesi) in vivo ve in vitro kanıtlar bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, biyogenezin birinci ve ikinci adımlarının sırasıyla çekirdek ve sitoplazmada gerçekleştiği, pre-miRNA'nın nükleer ihracat için substrat olarak hizmet ettiği bildirilmiştir (32).

Farklı fizyolojik olaylar ve hastalıkların patogenezi, epigenetik mekanizmaların moleküler düzeyde anlaşılması ve alternatif uygulamalar için miRNA biyogenez yolağı potansiyel hedef olarak gözükmemektedir (23). miRNA biyogenezini çekirdekte RNA polimeraz II aracılığıyla transkripsiyon ile başlar ve hairpin yapısında olgun miRNA dizisini içeren uzun miRNA (pri-miRNA)'dan oluşur. Hairpin yapısı Drosha (RNAaz III enzimi) ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8)'den oluşan mikroprosesör tarafından kesilir. Oluşan öncü miRNA (pre-miRNA) nükleustan Exportin-5 ile sitoplazmaya taşınır ve diğer RNAaz III enzimi olan Dicer tarafından 21-24 nükleotid uzunluğundaki dubleks miRNA'ya kesilir. Olgun diziyeye kesilecek olan iplik miRNA, RNA indüklenmiş susturma kompleksinde (RISC) Argonaute'a yüklenir. miRNA'nın 2-8 nükleotidlik çekirdek dizisi hedef mRNA ile tam olarak eşlendiğinde mRNA'nın destabilizasyonu sağlanır. Ancak tam olarak eşlenmediği zaman translasyonel baskılanmaya neden olur (Şekil 1), (23, 54).



Şekil 1. miRNA'nın gelişim basamakları (44).

## **BAZI ÇİFTLİK HAYVANLARINDA MİRNA VE FONKSİYONLARI**

miRNA'lar hayvanlarda biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynar ve gelişimin çeşitli aşamalarında genlerin ekspresyonunu düzenler. Hayvanlarda miRNA'lar hedef mRNA'lar ile sınırlı bir bütünlük oluşturmalarına rağmen fizyolojik süreçlerin çoğunda önemli roller üstlenmektedir (40). Bununla birlikte miRNA düzenleyici ağlar, özellikle evcil hayvanlarda henüz yeterince tanımlanmamıştır (42).

Çeşitli hayvanlarda yüzlerce miRNA geni bulunmuştur ve bunların çoğu filogenetik olarak korunmuştur. Bu konuda her geçen gün hücre ölümü, hücre proliferasyonu, hematopoez ve sinir sisteminin modellenmesinde tanımlanan miRNA rolleriyle birlikte, hayvan miRNA'larının daha fazla sayıda olduğuna ve düzenleyici etkilerinin beklenenden daha yaygın olduğuna dair kanıtlar artmaktadır (4).

Hayvancılıkta yapılan profillemeye çalışmaları, birçok miRNA'nın türe ve dokuya özgü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu da miRNA'ların hayvancılıkta kas ve organ gelişimi, bağışıklık tepkisi ve metabolizma gibi temel biyolojik süreçlerde önemli roller oynadığını göstermektedir (34).

Ekonomik açıdan önemli özelliklerle ilişkili miRNA'ların ekspresyonundakiırka bağlı varyasyonun yanı sıra miRNA hedef bölgelerinde polimorfizmin varlığı sığır, koyun, tavuk, domuz, keçi ve atlarda bir seçim programlarının temelini oluşturmaktadır. Dolaşımdaki miRNA'ların farklı fizyolojik durumlar ve hastalıklar için biyobelirteçler olarak potansiyel kullanımı, çiftlik hayvanlarının sağlığını ve doğurganlığını ve süt kalitesini iyileştirmeye de yardımcı olabilir (16). Yapılan sınırlı fonksiyonel çalışmalar, miRNA'ların çiftlik hayvanlarında kas gelişimi ve hipertrofisi, yağ dokusu büyümesi, oosit olgunlaşması ve erken embriyonik gelişimde önemli rollere sahip olduğunu göstermektedir (55).

Günümüzde memeli hayvanlardan köpeklerde (502 öncü, 453 olgun) atlarda (715 öncü, 690 olgun), sığırlarda (1064 öncü, 1025 olgun), keçilerde (267 öncü, 436 olgun) ve koyunlarda (106 öncü, 153 olgun) miRNA tespit edilmiştir (3).

Yapılan bir çalışmada, atların ovaryumunda folikül seçimi ve ovulasyon sırasında hücre sağkalımı, steroidogenez ve farklılaşmanın düzenlenmesinde çeşitli miRNA'ların fizyolojik bir rolü olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, miRNA'ların polisakkarit depolama miyopatisi, rabdomiyoliz ve osteokondroz gibi miyopatisler için yeni tanısal belirteçler olarak kullanılabilceği, ayrıca kandaki miRNA'ların glikoz metabolizması yolağında önemli rol üstlenebileceği bildirilmiştir (52).

Arap yarış atlarında lipid metabolizmasını etkilediği bilinen sekiz miRNA'nın tükürükteki yarış öncesi ve yarış sonrası ekspresyon düzeylerinin belirlendiği bir çalışmada eca-miR-33a'nın ekspresyon seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğ u, hem eca-miR-33a hem de hedef genlerinin (ABCA1, CROT, ABHD2 ve SATB2), yarış sırasında enerji sağlamak için Arap atlarında lipid metabolizmasında önemli roller oynayan potansiyel çekirdek genler olabileceği ortaya konulmuştur (15).

Köpeklerde yapılan bir araştırmada miRNA düzenleyici mekanizmaların retinal dejenerasyon süreçlerinde de rol oynayabileceği ve dejeneratif sürecin ilerlemesini geciktirmek için yeni miRNA tabanlı tedavilerin imkân sağladığı bildirilmiştir (18).

İnsan meme kanserlerine yüksek benzerliği nedeniyle köpeklerde en sık görülen meme tümörlerinin klinik teşhis, tedavi seçenekleri ve prognozunda miRNA'lar umut verici biyobelirteçlerdir (29). Düzensiz dolaşımdaki miR-21 köpeklerde meme tümörlerinin erken teşhisi için değerli bir prognostik belirteçtir (27).

Etlik piliçlerde *Eimeria* spp. ile enfeksiyonun neden olduğu subklinik koksidiyozu teşhis etmek için kullanılabilen gga-miR-122-5p, gga-miR-205b ve gga-miR-144-3p tespit edilmiştir (19).

### **Sığırlarda miRNA**

Kodlamayan miRNA'lar, hayvan türleri de dâhil olmak üzere memelilerin büyümesini ve gelişimini kontrol eden hedef genlerin uzamsal-zamansal ifadesinin anahtar düzenleyicileri olarak ortaya çıkmıştır. Evcilleştirme süreci sırasında, miRNA'lardaki ve/veya miRNA bağlanma bölgelerindeki mutasyonel değişikliklerin seçimi, evcilleştirilmiş sığırları yabani yaban sığırdan ayıran bazı özelliklerin üretilmesi için bir mekanizma sağlamış olabilir. *B. taurus* ve *B. primigenius* arasında değiştirilmiş miRNA bağlanma bölgelerine sahip tespit edilen 1.620 gen, aday evcilleştirme genlerini temsil eder. Bu 1.620 aday evcilleştirme geni pigmentasyon, doğurganlık, nörobiyoloji, metabolizma, bağışıklık ve üretim özelliklerindeki (süt kalitesi ve yemden yararlanma vb.) rollere sahiptir (6).

İnek sütü canlı hücrelere aktarılabilen ve buzağının mide-bağırsak ve bağışıklık sistemlerinin gelişiminde rol oynayan RNA'lar içermektedir. Ayrıca, süten elde edilen mikroveziküllerde önemli miktarda meme bezi ve bağışıklıkla ilgili miRNA'lar mevcuttur (21). Eksozomlar tarafından iletilen süt miRNA'ları ve meme bezi epitel hücrelerindeki süt yağı globülleri bu süreçte önemli bir rol oynar. İnsan ve inek sütünün eksozomlarında ve süt yağ globüllerinde en bol bulunan miRNA-148a, epigenetik düzenlemede kritik bir rol oynayan DNA metilt-

ransferaz 1'in ekspresyonunu azaltır. Sütün bir diğer önemli miRNA'sı olan miRNA-125b, genomun koruyucusu olan p53'ü ve onun çeşitli transkripsiyonel ağını hedefler (39). Bta-miR-15a, sığır meme epitel hücrelerinin canlılığının yanı sıra kazein, GHR mRNA ve protein seviyesinin ekspresyonunu inhibe etmekte, buna bağlı olarak hücre sayısı ve canlılığı azalmaktadır. Bu nedenle bta-miR-15a'nın meme bezi fizyolojisinde önemli rol oynamaktadır (34).

Yapılan bir araştırmada, sığır sütündeki inflamasyonla ilişkili miRNA ekspresyon seviyesinin mastitisten etkilendiği ve sütteki miRNA'nın sığır mastitisinin biyobelirteçleri olarak kullanım potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (31).

Süt ineklerinde endometrit, yüksek morbidite ve ölüme neden olabilen, dünya çapında önemli bir ekonomik sorundur. Endometritte, gram negatif bakteri *Escherichia coli*'nin (*E. coli*) neden olduğu inflamatuvar yanıt, doğuştan gelen bağışıklık sistemini düzenleyebilen miRNA'nın ifadesini değiştirir. Antimikrobiyal direncin ortaya çıkması ve yaygınlığı nedeniyle, endometritin çözümünde antibiyotiklere ve bitkisel ilaçlara ek olarak, miRNA'lar önemli terapötik bir yol olarak görülmüştür (50). Başka bir çalışmada, sağlıklı ineklere kıyasla subklinik endometritli ineklerde 23 miRNA'nın anormal ekspresyonu tespit edilmiş, bu durumun sığır subklinik endometritin gelişimi ve ilerlemesinde uterus miRNA'larının potansiyel düzenleyici rolünü ortaya koyduğu bildirilmiştir (20).

Yapılan bir araştırmada, miRNA'lardaki SNP'nin sığır fenotiplerini etkileme potansiyeline sahip olduğu ve üretimin yanı sıra genetik iyileştirme çalışmaları için büyük değere sahip olabileceği bildirilmiştir (49).

## **Keçilerde miRNA**

miRNA'lar, transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenleyerek çeşitli biyolojik ve metabolik süreçlerde kritik roller üstlenirler. Çeşitli hayvan modellerinde miRNA'ların kapsamlı yüksek verimli dizileme çalışmaları yapılmıştır. Bununla birlikte, dünya çapında yetiştirilen en eski evcilleştirilmiş türlerden biri olan keçi (*Capra hircus*) bu düzenleyici RNA'ların çeşitliliği hakkında çok az şey bilinmektedir. Keçiler uzun zamandır dünyanın birçok yerinde sütleri, etleri, kılırları (kaşmir dâhil) ve derileri için yetiştirilmektedir. Meme bezinin biyolojisi ile ilgili ortaya konulan miRNA'ların karakterizasyonu, süt keçilerinde laktasyon fizyolojisinin moleküler mekanizmalarının ve meme bezi gelişiminin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (33).

Süt yağı metabolizması, çeşitli faktörler tarafından kontrol edilen karmaşık bir prosedürdür. miRNA'lar genlerin ekspresyonunu düzenler ve yağ asidi metabolizması gibi bir dizi biyolojik prosedürü etkiler. Yapılan diğer bir çalışmada da ke-

çilerde miR-145'in meme bezi epitel hücrelerinde yağ asitlerinin metabolizmasını düzenlediği, bunların aşırı ekspresyonunun daha fazla yağ damlacığı oluşumu, triacylglycerol birikimi ve doymamış yağ asitlerinin artış oranı ile sonuçlanan süt yağı sentezi ile ilişkili genlerin transkripsiyonunu arttırdığı bildirilmiştir (56). Capra hircus'un laktasyondaki meme bezindeki miRNA'ların fonksiyonel rollerini araştırmak için yapılan bir araştırmada miRNA aracılı gen ekspresyonunun düzenlenmesinin süt keçilerinde erken laktasyon sırasında meydana geldiği saptanmıştır (28).

Dişi keçilerde miRNA'lar cinsel olgunluğun başlamasının düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, keçi hipofiz dokusunda 476 miRNA tespit edilmiş, miRNA hedef genlerinin, GABAerjik sinaps, oksitosin sinyal yolu, cAMP sinyal yolu, progesteron aracılı oosit olgunlaşması dâhil, cinsel olgunluk sırasında ovaryum gelişimi ile ilgili yollarda zenginleştiği belirlenmiştir (61).

miRNA'ların keçilerin önemli özelliklerinden biri olan kıl verimi ile ilişkisi de bulunmaktadır. Alopesinin neden olduğu kıl köklerinin ve kıl kaybının gelişimi ve rejenerasyonunda miRNA'ların önemli modülatör role sahip olduğu bildirilmiştir (58). Başka bir araştırmada ise miRNA-203'ün Kaşmir keçilerinde kıl folikülü gelişimini düzenleyebileceği belirlenmiştir (38).

miRNA bağlanma bölgelerindeki gen ekspresyonunu etkileyen miR-SNP'ler, keçilerde yetiştirme programlarında potansiyel genetik belirteçler olarak değerlendirilmektedir (24). Bu konuda yapılan bir çalışmada, üretim maliyetlerini düşürmek, üretimi artırmak, büyüme oranını ve yağsız yüzdeyi iyileştirmek için hayvancılıkta yasadışı kullanılan clenbuterol, salbutamol, ractopamine ve feniletanolamin A gibi  $\beta$ 2-agonistlerinin yasadışı kullanımını izlemek için miRNA'ların biyobelirteç olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (63).

## **Koyunlarda miRNA**

Koyun ekonomik açıdan önemli bir hayvandır ve farklı koyun ırklarının büyüme mekanizmalarında farklılıklar vardır. Koyunlarda et kalitesinin iyileştirilmesi de büyük önem taşımaktadır. Kas içi yağ, et kalitesini ölçmek için en önemli göstergelerden biridir ve esas olarak genetik faktörlerden etkilenir. miRNA, koyun kas içi yağ birikiminin geliştirilmesinde araştırma eksikliği olan önemli bir düzenleyici faktördür (62).

Koyunların iskelet kasındaki miRNA'lar üzerine yapılan çalışmalar kapsamlı değildir. Buna karşın son çalışmalar miRNA'ların iskelet kaslarının gelişiminde rol oynadığını göstermektedir (36). Aohan koyunlarında kas içi lipid birikimi sırasında farklı şekilde eksprese edilen mRNA'lar tanımlanmıştır (62).



Östrus ve gebeliğin farklı dönemindeki koyunlarda miR-21, miR-205 ve miR-200'ün meme bezinde bulunduğu, miR-205 ve miR-200'ün gebeliğin ikinci yarısında memede epitel gelişimine etki edebileceği ve süt salgılanması üzerinde etkisi olduğu gözlemlenmiştir (17).

Koyunlarda doğum sonrası uterus involüsyonunun, hipotalamik-uterin ekseninde öncelikle miRNA-200a-PTEN ve miRNA-133-FGFR1 gen çiftini (59) ve maternal uterin involüsyonunun miRNA-200a-ZEB1 ve YAP1'i (60) içerebileceği bildirilmiştir

## **ÇİFTLİK HAYVANLARININ HASTALIKLARINDA MİRNA**

Semptomlar ortaya çıkmadan önce hastalıkları tanımlamanın en önemli yolu, hastalıkla ilişkili biyobelirteçlerin keşfedilmesidir (7). miRNA'ların çiftlik hayvanı hastalıklarının patogeneğinde önemli düzenleyici roller oynadığına ve hayvan hastalıklarının yönetimi için biyobelirteçler olarak önemli bir potansiyele sahip olduklarına şüphe yoktur. Çiftlik hayvanlarının hastalıklarını kontrol etmek için acil ihtiyaç göz önüne alındığında, son yıllarda miRNA araştırmalarında önemli bir artış gözlenmiştir (13). Son moleküler biyoloji keşifleri, miRNA'ların yaşlanma ve hücrel yaşlanmanın potansiyel sensörleri olduğunu ortaya çıkarmıştır. miRNA'ların belirli genlerin mRNA'sının 3' çevrilmemiş bölgesine (UTR) bağlanma yeteneği nedeniyle, miRNA'lar belirli genlerin translasyonunu önleyebilir (57).

Dolaşımdaki miRNA'ların en büyük avantajı, erken teşhis için belirteçler olarak kullanılabilmesidir. Bu yöntem, sürülerdeki enfekte hayvanları hızlı bir şekilde tanımlayarak salgınların yayılmasını önlemede ve işletmelerin yüksek ölümlere bağlı ekonomik kayıplarını azaltmada önem taşımaktadır. Gelecekte, dolaşımdaki miRNA'ları saptama yönteminin laboratuvarlardan kliniklere taşınması mümkün olabilecektir (14).

miRNA'lar, hayvan hastalıklarıyla ilgili hipoteze dayalı araştırmalar yanında profilaktik ve hastalık tedavi stratejileri geliştirilmesini hızlandırmaya yardımcı olacak bir kaynak sağlamaktadır (7). Hastalık biyobelirteçleri olarak miRNA'lar genelde çeşitli kanser türleri için gösterilmiştir. Ancak yakın zamanlarda dikkatler Mycobacterium tuberculosis, çoklu enfeksiyon ajanlarının neden olduğu sepsis ve viral hepatit gibi bulaşıcı hastalıkların tanısıl/prognostik biyobelirteçleri olarak dolaşımdaki miRNA'ların kullanımına odaklanmıştır (9).

Hangi viral enfeksiyonda hangi miRNA'nın yer aldığı ve oynadıkları rolün bilinmesi, kesin tedavisi olmayan bazı hastalıklar için yeni antiviral terapötik ajanların geliştirilmesine yardımcı olabilir (5).

Yapılan bazı araştırmalarda miRNA'ların insanlarda ve hayvanlarda hem karbondhidrat hem de lipit homeostazının düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca, metabolizma ile ilgili bu miRNA'ların düzensizliğinin, tip 2 diyabet, obezite, alkolsüz yağlı karaciğer, insülin direnci ve hiperlipidemi gibi çeşitli metabolik bozuklukların gelişmesine yol açtığı gözlemlenmiştir (43).

## **MİRNA VE KANSER**

Genom, DNA hasarına neden olan eksojen veya endojen sayısız farklı etkene maruz kalır. Tüm organizmalar genetik materyallerini bu çevresel etkenlerin oluşturduğu hasarlara karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizması içerirler. DNA onarımı, hücrede tek bir mutasyonla başlayan, hasarlı DNA oluşumu ve kanser tablosuyla son bulabilen yolda, hücreyi koruyan önemli bir mekanizmadır. DNA onarımındaki hatalar da genetik kararsızlığa neden olurlar ve kanserlerin çoğunluğu tamir edilmemiş DNA hasarından kaynaklanır (12).

Yakın zamanda yapılan gen ekspresyon çalışmaları, kontrolsüz hücre bölünmesinin gerçekleştiği kanser hücrelerinde değişikliğe uğramış miRNA ekspresyonlarını gözler önüne sermiştir (46). Kanserdeki rollerinin anlaşılmasına başlanması ile miRNA'lar kanserin moleküler patolojisinin ortaya konulması ve moleküler hedefe yönelik tedaviler geliştirilmesinde umut olmuştur. miRNA'ların kanser hücrelerindeki seviyelerinin normal hücrelerle karşılaştırılması kanserin tanısı, takip ve tedavisinde önem kazanmıştır (11).

Kanserin başlamasında ve ilerlemesinde miRNA'lar hedefledikleri genin karakterine göre tümör süpresörler veya onkogenler gibi fonksiyon göstermektedirler. Bu kategoriye önemli bir örnek, kronik lenfositik lösemi ve akciğer kanserinde bir tümör süpresör, meme kanserinde ise bir onkogen olarak fonksiyon gösteren miR-29a'dır (46). Pek çok kanserde bazı miRNA'ların onkogen, bazılarının ise tümör süpresör gen gibi işlev görmesi, tümör ilerlemesi, metastazı ve invazyonunda miRNA'ların düzenleyici olduğunu göstermektedir (11).

Kanser tedavisi için faz I klinik denemelere ulaşan tümör baskılayıcı miRNA miR-34'ün bir taklidi ve hepatit tedavisi için faz II denemelerine ulaşan miR-122'yi hedef alan antimiR'ler dahil olmak üzere, miRNA hedefli birkaç terapötik klinik gelişmeye ulaşmıştır (45).

## **SONUÇ**

Hayvanlarda verimi artırmak ya da çeşitli hastalıkların teşhis, tedavi ve prognozunda gen susturulmasından sorumlu ilgili miRNA'lardan yararlanılması, güncel bir yaklaşım ve hedef olarak büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla farklı türlerde

belirlenmiş miRNA belirteçlerinin sayısı her geçen gün artmaya devam etmektedir. Ancak miRNA'ların her biri çok sayıda hedef genin ekspresyonunu düzenleyebildiği gibi tek bir gen birçok miRNA tarafından düzenlenebilmektedir. Bu nedenle miRNA'ların ekspresyonunun değiştirilmesi tek bir gen ürününü etkilemekten ziyade bütün gen düzenleyici sistemi etkileyebilmektedir. Bütün zorluklara ve olumsuzluklara rağmen, belirteç olarak yeni miRNA'ların tespiti yanında miRNA'ların biyogonezi ve epigenetik mekanizmalarının moleküler düzeyde daha iyi anlaşılması, gelecek yıllarda hayvan yetiştiriciliği ve sağlığı alanlarında gen ifadesini kontrol etmede avantajlı bir metot olarak daha etkin şekilde kullanılmasını sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Ahmad J, Hasnain SE, Siddiqui MA, et al. MicroRNA in carcinogenesis & cancer diagnostics: a new paradigm. *Indian Journal of Medical Research*; 2013; 137(4):680-694.
2. Anonim. 2022. *Tanskripsiyon*. (26/06/2022 tarihinde [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/128283/mod\\_resource/content/1/Transkripsiyon.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/128283/mod_resource/content/1/Transkripsiyon.pdf) adresinden ulaşılmıştır).
3. Anonim. 2022. *miRBase: the microRNA database*. (26/06/2022 tarihinde <https://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl> adresinden ulaşılmıştır).
4. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*; 2004; 431: 350-355.
5. Barbu MG, Condrat CE, Thompson DC, et al. MicroRNA involvement in signaling pathways during viral infection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*; 2020; 8: 143. doi: 10.3389/fcell.2020.00143
6. Braud M, Magee DA, Park SD, et al. Genome-wide microRNA binding site variation between extinct wild aurochs and modern cattle identifies candidate microRNA-regulated domestication genes. *Frontiers in Genetics*; 2017; 8:3. doi: 10.3389/fgene.2017.00003.
7. Buza T, Arick M, Wang H, et al. Computational prediction of disease microRNAs in domestic animals. *BMC Research Notes*; 2014. 277:403. doi: 10.1186/1756-0500-7-403.
8. Chen X, Liang H, Zhang J, et al. Secreted microRNAs: A new form of intercellular communication. *Trends in Cell Biology*; 2012; 22:125-32. doi: 10.1016/j.tcb.2011.12.001.
9. Correia CN, Nalpas NC, McLoughlin KE, et al. Circulating microRNAs as Potential Biomarkers of Infectious Disease. *Frontiers in Immunology*; 2017; 8:118. doi: 10.3389/fimmu.2017.00118.
10. Correia de Sousa M, Gjorgjieva M, Dolicka D, et al. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing. *International Journal of Molecular Sciences*; 2019; 20(24):6249. doi: 10.3390/ijms20246249.
11. Çelik DA, Koşar PA, Özçelik N. MikroRNA'lar ve kanser ile ilişkisi *SDÜ Tıp Fakültesi*; 2013; 20(3), 121-127.
12. Debeleş Bütüner B, Kantarcı G. Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*; 2006; 35(2) 149-170.
13. Do DN, Dudemaine PL, Mathur M, et al. MiRNA regulatory functions in farm animal diseases, and biomarker potentials for effective therapies. *International Journal of Molecular Sciences*; 2021; 22(6):3080. doi: 10.3390/ijms22063080.
14. Dong H, Gao Q, Peng X, et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers for veterinary infectious diseases. *Frontiers in Veterinary Science*; 2017; 4:186. doi: 10.3389/fvets.2017.00186.
15. Ekici S, Ozmen O. Affecting lipid metabolism salivary microRNAs expressions in Arabian racehorses before and after the race. *Journal of Equine Veterinary Science*; 2020; 93:103218. doi: 10.1016/j.jevs.2020.103218.

16. Fatima A, Morris DG. MicroRNAs in domestic livestock. *Physiological Genomics*; 2013; 15;45(16):685-96. doi: 10.1152/physiolgenomics.00009.2013.
17. Galio L, Droineau S, Yeboah P, et al. MicroRNA in the ovine mammary gland during early pregnancy: spatial and temporal expression of miR-21, miR-205, and miR-200. *Physiological Genomics*; 2013; 45(4), 151-161.
18. Genini S, Guziewicz KE, Beltran WA, et al. Altered miRNA expression in canine retinas during normal development and in models of retinal degeneration. *BMC Genomics*; 2014; 1;15(1):172. doi: 10.1186/1471-2164-15-172.
19. Giles T, van Limbergen T, Sakkas P, et al. Diagnosis of sub-clinical coccidiosis in fast growing broiler chickens by microRNA profiling. *Genomics*; 2020; 112(5):3218-3225. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.03.010.
20. Hailemariam D, Ibrahim S, Hoelker M, et al. MicroRNA-regulated molecular mechanism underlying bovine subclinical endometritis. *Reproduction, Fertility and Development*; 2014; 26(6):898-913. doi: 10.1071/RD13027.
21. Hata T, Murakami K, Nakatani H, et al. Isolation of bovine milk-derived micro vesicles carrying mRNAs and microRNAs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 2010; 396, 528-533.
22. Hill M, Tran N. MiRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer. *Disease Models & Mechanisms*; 2021; 14(4):dmm047662. doi: 10.1242/dmm.047662.
23. Hitit M, Kurar E, Güzeloğlu A. MikroRNA biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimler Dergisi*; 2015; 10(3): 211-218. doi: 10.17094/avbd.35776
24. Hou J, An X, Song Y, et al. Two mutations in the caprine MTHFR 3'UTR regulated by microRNAs are associated with milk production traits. *PLoS One*; 2015; 10(7):e0133015. doi: 10.1371/journal.pone.0133015.
25. Howard KM, Jati Kusuma R, Baier SR, et al. Loss of miRNAs during processing and storage of cow's (*Bos taurus*) milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 2015; 63: 588-592. doi: 10.1021/jf505526w
26. Hrdlickova B, de Almeida RC, Borek Z, et al. Genetic variation in the noncoding genome: Involvement of micro-RNAs and long non-coding RNAs in disease. *Biochimica et Biophysica Acta*; 2014; pii: S0925-4439(14)00071-4. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.03.011.
27. Jain M, Ingole SD, Deshmukh RS, et al. CEA, CA 15-3, and miRNA expression as potential biomarkers in canine mammary tumors. *Chromosome Research*; 2021; 29(2):175-188. doi: 10.1007/s10577-021-09652-7.
28. Ji Z, Wang G, Xie Z, et al. Identification and characterization of microRNA in the dairy goat (*Capra hircus*) mammary gland by solexa deep-sequencing technology. *Molecular Biology Reports*; 2012; 39(10): 9361-71. doi: 10.1007/s11033-012-1779-5.
29. Kaszak I, Ruszczak A, Kanafa S, et al. Current biomarkers of canine mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 2018; 60(1): 66. doi: 10.1186/s13028-018-0417-1.
30. Kumar S, Vijayan M, Bhatti JS, et al. MicroRNAs as peripheral biomarkers in aging and age-related diseases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*; 2017; 146:47-94. doi: 10.1016/bs.pmbts.2016.12.013.
31. Lai YC, Fujikawa T, Maemura T, et al. Inflammation-related microRNA expression level in the bovine milk is affected by mastitis. *PLoS One*; 2017; 12(5):e0177182. doi: 10.1371/journal.pone.0177182.
32. Lee Y, Jeon K, Lee JT, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO Journal*; 2002; 21(17):4663-70. doi: 10.1093/emboj/cdf476.
33. Li Z, Lan X, Guo W, et al. Comparative transcriptome profiling of dairy goat microRNAs from dry period and peak lactation mammary gland tissues. *PLoS One*; 2012; 7(12):e52388. doi: 10.1371/journal.pone.0052388.
34. Li HM, Wang CM, Li QZ, et al. MiR-15a decreases bovine mammary epithelial cell viability and lactation and regulates growth hormone receptor expression. *Molecules*; 2012; 17(10):12037-

48. doi: 10.3390/molecules171012037.
35. Liu HC, Hicks JA, Trakooljul N, et al. Current knowledge of microRNA characterization in agricultural animals. *Animal Genetics*; 2010; 41(3):225-31. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01995.x.
36. Liu Z, Li C, Li X, et al. Expression profiles of microRNAs in skeletal muscle of sheep by deep sequencing. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*; 2019; 32(6):757-766. doi: 10.5713/ajas.18.0473.
37. Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*; 2018; 141(4):1202-1207. doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.034.
38. Ma T, Li J, Li J, et al. Expression of miRNA-203 and its target gene in hair follicle cycle development of Cashmere goat. *Cell Cycle*; 2021; 20(2):204-210. doi: 10.1080/15384101.2020.1867789.
39. Melnik BC, Schmitz G. MicroRNAs: milk's epigenetic regulators. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*; 2017; 31(4):427-442. doi: 10.1016/j.beem.2017.10.003.
40. Muzaffar S, Bisht K. Recent developments in understanding the mechanism and functions of microRNAs. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*; 2017; 5 (02): 001-007. DOI: 10.7324/JABB.2017.50201
41. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y et al. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*; 2018; 9:402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402
42. Pasquini G, Kunej TA Map of the microRNA regulatory networks identified by experimentally validated microRNA-target interactions in five domestic animals: cattle, pig, sheep, dog, and chicken. *OMICS*; 2019; 23(9):448-456. doi: 10.1089/omi.2019.0082.
43. Paul S, Bravo Vázquez LA, Uribe SP, et al. Roles of microRNAs in carbohydrate and lipid metabolism disorders and their therapeutic potential. *Biochimie*; 2021; 187:83-93. doi: 10.1016/j.biochi.2021.05.015.
44. Rani V, Sengar RS. Biogenesis and mechanisms of microRNA-mediated gene regulation. *Biotechnology and Bioengineering*; 2022; 119(3): 685-692.
45. Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*; 2017;16(3):203-222. doi: 10.1038/nrd.2016.246.
46. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi*; 2011; 38(1): 113-120.
47. Serin MS. miRNA ve diğer "non-coding" RNA'ların tanı ve tedavi stratejileri geliştirilmesindeki yeri. *Türk Farmakoloji Derneği XXI. Eğitim Sempozyumu*, 30 Mayıs 2014, İzmir, Türkiye.
48. Slezak-Prochazka I, Durmus S, Kroesen BJ, et al. MicroRNAs, macrocontrol: regulation of miRNA processing. *RNA*; 2010; 16(6):1087-1095. doi: 10.1261/rna.1804410.
49. Sousa MAP, de Athayde FRE, Maldonado MBC, et al. Single nucleotide polymorphisms affect miRNA target prediction in bovine. *PLoS One*; 2021; 16(4):e0249406. doi: 10.1371/journal.pone.0249406.
50. Umar T, Yin B, Umer S, et al. MicroRNA: Could it play a role in bovine endometritis? *Inflammation*; 2021; 44(5):1683-1695. doi: 10.1007/s10753-021-01458-3.
51. Ünal E, Tahmaz I, Toroslu İ, et al. 2022. *Post-transkripsiyonel gen susturulması ve kullanım alanları*. (26/06/2022 tarihinde <http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/cg/sempozyum/ogrsmpzsnm15/15.P10.pdf> adresinden ulaşılmıştır).
52. van der Kolk JH, Pacholewska A, Gerber V. The role of microRNAs in equine medicine: a review. *Veterinary Quarterly*; 2015; 35(2):88-96. doi: 10.1080/01652176.2015.1021186.
53. Vienberg S, Geiger J, Madsen S, et al. MicroRNAs in metabolism. *Acta Physiologica (Oxford)*; 2017; 219(2):346-361. doi: 10.1111/apha.12681.
54. Wahid F, Shehzad A, Khan T, et al. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochimica et Biophysica Acta*; 2010; 1803(11): 1231-1243.
55. Wang X, Gu Z, Jiang H. MicroRNAs in farm animals. *Animal*; 2013; 7(10):1567-1575. doi: 10.1017/S1751731113001183.
56. Wang H, Shi H, Luo J, et al. MiR-145 Regulates lipogenesis in goat mammary cells via targeting

- INSIG1 and epigenetic regulation of lipid-related genes. *Journal of Cellular Physiology*; 2017; 232(5):1030-1040. doi: 10.1002/jcp.25499.
57. Williams J, Smith F, Kumar S, et al. Are microRNAs true sensors of ageing and cellular senescence? *Ageing Research Reviews*; 2017; 35:350-363. doi: 10.1016/j.arr.2016.11.008.
  58. Yang M, Weng T, Zhang W, et al. The roles of non-coding RNA in the development and regeneration of hair follicles: current status and further perspectives. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*; 2021; 9:720879. doi: 10.3389/fcell.2021.720879.
  59. Yang H, Fu L, Luo Q, et al. Identification and validation of key miRNAs and miRNA-mRNA regulatory network associated with uterine involution in postpartum Kazakh sheep. *Archives Animal Breeding*; 2021; 64(1):119-129. doi: 10.5194/aab-64-119-2021.
  60. Yang H, Fu L, Luo Q, et al. Comparative analysis of differentially expressed miRNAs related to uterine involution in the ovine ovary and uterus. *Archives Animal Breeding*; 2021; 64(1):167-175. doi: 10.5194/aab-64-167-2021.
  61. Ye J, Yao Z, Si W, et al. Identification and characterization of microRNAs in the pituitary of pubescent goats. *Reproductive Biology and Endocrinology*; 2018; 16(1):51. doi: 10.1186/s12958-018-0370-x.
  62. Yuan C, Zhang K, Yue Y, et al. Analysis of dynamic and widespread lncRNA and miRNA expression in fetal sheep skeletal muscle. *PeerJ*; 2020; 8:e9957. doi: 10.7717/peerj.9957.
  63. Zhao L, Yang S, You X, et al. Novel miRNA-based biomarker panel for detection  $\beta_2$ -agonists in goats. *Food Chemistry*; 2019; 288:15-21. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.193.