

MikroRNA'ların Parazitolojideki Yeri

The Role of MicroRNAs in Parasitology

Özlem Ulusan Bağcı¹, Ayşe Caner^{1,2,3}

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, SBE Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi Kanserle Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir Türkiye

Cite this article as: Ulusan Bağcı Ö, Caner A. MikroRNA'ların Parazitolojideki Yeri. Türkiye Parazit Derg 2020;44(2):102-8.

ÖZ

Epigenetik düzenleyiciler olarak mikroRNA'lar (miRNA'lar), biyolojik fonksiyonları kontrol etmek için transkripsiyon sonrası seviyede ökaryotlarda gen ekspresyonunu düzenleyen küçük kodlayıcı olmayan RNA'lardır. MikroRNA'lar, parazitlerin gelişimi, fizyolojisi, enfeksiyonu, bağışıklığı ve karmaşık yaşam döngülerinde rol oynamaktadır. Ayrıca parazitler, konak miRNA ekspresyonunu değiştirerek parazitlerin kontrolüne/temizlenmesine veya enfeksiyonun oluşmasına neden olmaktadır. Son 20 yılda, *Caenorhabditis elegans* ve diğer parazitlerde binlerce miRNA tanımlanmıştır. Bu nedenle, miRNA yolları parazitler hastalıklarının teşhisi ve terapötik kontrolü için potansiyel hedefler arasında yer almaktadır. Bu derlemede, protozoonlar, helmintler ve artropodlar ile ilgili miRNA'ların mevcut durumunu ve potansiyel fonksiyonlarını gözden geçirmeyi planladık.

Anahtar Kelimeler: mikroRNA, biyobelirteç, parazit, epigenetik

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs), as epigenetic regulators, are small non-coding RNAs regulating gene expression in eukaryotes at the post-transcriptional level to control biological functions. MicroRNAs play a role in development, physiology, infection, immunity and the complex life cycles of parasites. Also, parasite infection can alter host miRNA expression that might result in either parasite clearance or infection. Over the past 20 years, thousands of miRNAs have been identified in the nematode *Caenorhabditis elegans* and other parasites. Thus, miRNA pathways are potential targets for the diagnostic and therapeutic control of parasitic diseases. Here, we review the current status and potential functions of miRNAs related to protozoans, helminths, and arthropods.

Keywords: microRNA, biomarker, parasite, epigenetic

GİRİŞ

Epigenetik, DNA sekansında değişiklik olmadan gen ekspresyonunda veya hücre fenotipinde kalıtsal değişikliklerin oluşmasına neden olan modifikasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Epigenetik düzenlemeler farklı mekanizmalar üzerinden etkisini göstermekte olup; bu mekanizmalar DNA metilasyonu/asetilasyonu, kromatin varyasyonu ve kodlanmayan RNA'lar, özellikle mikroRNA'ları (miRNAs) kapsamaktadır (1). Gen ve protein ekspresyonunu düzenleyen miRNA'lar bu etkilerini RNA interferans (RNAi) mekanizması aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Çift zincirli RNA'nın komplementer mRNA zincirinde degradasyona yol açarak oluşturduğu transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kullanılan mekanizmaya RNAi denilmektedir. Bu mekanizma,

canlı organizmaların biyolojik fonksiyonlarının gelişmesi ve hücre savunma için genomun korunarak transkripsiyon sonrası gen regülasyonunda önemli rol oynamaktadır (2,3).

Tarihçe

RNA baskılama mekanizması ilk defa bitki genetiği üzerine yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır. Jorgensen ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda petunyada pigmentasyonu sağlayan enzim olan kalkan sentazın ekspresyonundan sorumlu genin epigenetik olarak düzenlenmesi ile mor petunyalarda elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla eksojen olarak hücreye gen aktarılmış ancak beklenen aksine oluşan petunyalarda %42'sinin beyaz, geri kalanının alacalı olduğu görülmüştür. Beyaz petunyalarda mRNA profilleri incelendiğinde mRNA oluşum



Geliş Tarihi/Received: 16.01.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 28.04.2020

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Ayşe Caner, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, SBE Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E-Posta/E-mail: ayse.caner@ege.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-3058-9971

hızında bir değişiklik olmadığı ancak oluşan mRNA miktarının vahşi tip petunyalardan %50 daha az olduğu saptanmıştır (4). Daha sonra yapılan çalışmalar ekzojen gen verilmesini takiben oluşan çift zincirli RNA'ların (dsRNA) transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenlediğini göstermişler ve böylece RNAi'nin temelleri ortaya atılmıştır.

RNAi ile ilgili ilk çalışmalar Horvitz ve ark. (5) tarafından bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) üzerinde başlamış ve lin-4 geninin *C. elegans* gelişimini düzenleyen genlerden biri olduğu ortaya konulmuştur. Daha sonra aynı grup 1987 yılında lin-4'ün supresör bir mutasyona sahip olan formu lin-14'ü bulmuştur (6,7). RNAi tanımı ise ilk defa Horvitz'in laboratuvarından ayrılan Ambros ve Ruvkun tarafından rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar tarafından lin-4'ün protein kodlamayan RNA yapısında olduğu, lin-14'ün 3'UTR (untranscribed region) ucundan transkripsiyon sonrası supresyona uğradığı ve bundan lin-4'ün sorumlu olduğu saptanmıştır (8,9). Fire, Mello ve ark. tarafından 1998 yılında dsRNA'nın gen ekspresyonunu inhibe ettiği moleküler ve genetik çalışmalar ile gösterilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmaları ile 2006 yılında fizyoloji ve tıp alanında Nobel ödülünü kazanmışlardır (10). Tüm ökaryot organizmalarda tanımlanan RNAi mekanizması, diğer bir deyişle gen susturma mekanizması miRNA ve siRNA (small interfering RNA) molekülleri tarafından gerçekleştirilmektedir. siRNA'lar hücreye giren virüs DNA'larına komplementer olarak üretilmekte olup çift iplikli RNA yapısı içermekte ve hedef mRNA'yı bir protein kompleks aracılığıyla parçalamaktadır (11).

MikroRNA ve Biyogenezi

miRNA'lar transkripsiyon sonrası inhibisyon yoluyla gen ekspresyonunu düzenleyen küçük, endojen olarak eksprese edilen ve protein kodlamayan RNA'lar olarak sınıflandırılmaktadır. miRNA'lar yaklaşık 19-22 nükleotid uzunluğunda ve saç tokası şeklinde tek iplikli yapı içermektedir. Bu küçük oligonükleotitler hedeflenen mRNA'ların transkripsiyon sonrası parçalanmasına neden olmakta veya translasyonuna engel olmaktadır (11). miRNA'ların memelilerdeki tüm genlerin yaklaşık olarak %1'ini oluşturduğu saptanmıştır (12). miRNA'lar DNA sekanslarından primer miRNA (pri-miRNA) olarak sentezlenmekte, takiben prekürsör miRNA'lara (pre-miRNA) ve sonunda olgun miRNA'lara dönüşmektedir. Olgun miRNA'lar hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesinden bağlanarak ekspresyonu azaltmaktadır (13). miRNA sadece 3'UTR bölgesine bağlanmakla kalmayıp, aynı zamanda 5'UTR bölgesine, kodlanan bölgeye veya promoter bölgesine de bağlanabilmektedir (14). miRNA'nın gen ekspresyonunu artırabildiğine dair çalışmalar da rapor edilmektedir (15).

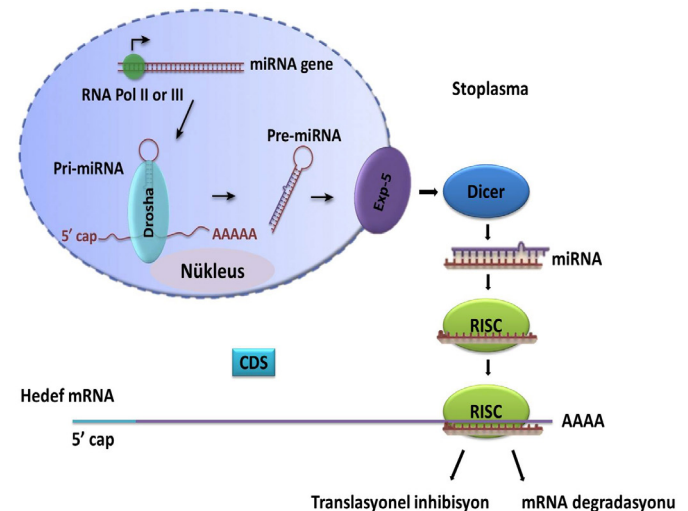
Hücre genomunda kodlanan miRNA genlerinden RNA polimeraz II veya III aracılığıyla pri-miRNA oluşmaktadır. Pri-miRNA, RNA polimeraz III enzimi (Drosha) ve onun kofaktörü olan DGCR8 ile oluşan bir protein kompleksinin etkisi ile pre-miRNA'ya dönüşmekte ve ekspresyonun 5 taşıyıcı proteini ile sitoplazmaya geçmektedir. Sitozole aktarılan pre-miRNA'lar doğrudan Rnaz III endonükleaza (Dicer) bağlanmaktadır. Dicer, pre-miRNA sap-ildiğini kestikten sonra, çift iplikli olgun miRNA'ların oluşumunu sağlamaktadır. Aynı zamanda Dicer RISC'in (RNA-indüklenmiş susturma kompleksi) oluşumunu başlatmaktadır. Bu çift iplikli olgun miRNA molekülünün bir ipliği yıkılmakta, diğeri ise RISC birleşmektedir. RISC tek iplikli miRNA'yı, mRNA'nın 3' UTR bölgesine bağlanmaya yönlendirerek, mRNA'nın yıkılmasına veya translasyonun engellenmesine neden olmaktadır (Şekil 1)

(16). Olgun miRNA'lar hücre içinde kalmakta veya ekstrasellüler veziküller ile dolaşıma geçmektedir (17).

miRNA'lar, hücre gelişimi, farklılaşması, proliferasyonu, apoptoz, tümörögenез ve konak hücre etkileşimi gibi canlıların yaşamı ile ilgili birçok biyolojik fonksiyonda önemli rol oynamaktadır. miRNA'lar, doğal ve kazanılmış immün yanıtların mekanizmasında; makrofajlar, dendritik hücreler, natural killer (NK) hücrelerinin gelişmesinde, B ve T lenfositlerin olgunlaşmasında, Th1 hücre cevabının kısıtlanmasında ve yüksek afiniteye sahip antikorların sentezlenmesinde görev almaktadır (18). miRNA'lar sadece hücre içinde bulunmazlar, ekstrasellüler sıvıya geçerek otokrin, parakrin etki ve kan dolaşımı ile endokrin etki gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda plazma, serum, beyin omurilik sıvısı, tükürük, idrar, gözyaşı, kolostrum, periton sıvısı, bronş lavajı, semen sıvısı ve ovarian foliküler sıvı gibi birçok biyolojik sıvıda miRNA'ların bulunabileceği gösterilmiştir (19). Biyolojik sıvılarda miRNA'lar mikroveziküller, ekzozomların yapısında bulunabildiği gibi lipoproteinlere bağlı olarak da taşınmaktadır. Son yıllarda genomik teknolojilerin ve biyoinformatik analiz yöntemlerinin gelişmesiyle beraber miRNA'lar en popüler araştırma konuları arasında yer almaktadır. Hücresel RNA'ların aksine plazmada bulunan miRNA'ların, kaynatma, dondurup-çözdürme ile pH değişikliklerine oldukça dayanıklı oldukları ve oda ısısında dört güne kadar kalabildikleri belirtilmektedir. miRNA'ların bu kararlı yapıları nedeniyle vücut örneklerinde kolay çalışma imkanı bulunmaktadır. Plazmadaki miRNA'ların serum, tükürük ve idrardan daha fazla oranda olduğu bildirilmektedir. İnsan vücudundaki genlerin üçte birinin miRNA'ların kontrolü altında olduğu ve her bir miRNA'nın 100-200 tane mRNA hedefi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (20). İnsan vücudunda birçok biyolojik fonksiyonda ve hücresel mekanizmalarda rol oynayan miRNA'ların hastalıkların tanısında ve prognoz tayininde kullanılabilecek invaziv olmayan biyobelirteçler olabileceği düşünülmüş ve bu alanda çalışmalara öncelik verilmiştir.

Mikromna ve Parazitoloji

miRNA'ların birçok parazitlerin patolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Son 20 yılda *C. elegans* ve diğer parazitlerde binlerce miRNA tanımlanmıştır. miRNA'ların parazitlerin büyümesi,



Şekil 1. MikroRNA'ların sentez süreci (16)

gelişmesi ve hücre farklılaşmasında görev aldıkları belirtilmiştir. Protozoonlar, helmintler ve eklemcabaklılardaki miRNA'ların mevcut durumunu, potansiyel işlevlerini ve tanı veya terapötik hedef olarak kullanılmasını inceleyen çalışmalar bulunmaktadır.

Bazı protozoon parazitlerde bulunan miRNA'lar, gen ekspresyonunu transkripsiyon sonrası düzeyde dört mekanizma ile düzenlemektedir: 1- miRNA'ların konak hücrelerinde immün yanıtların inhibisyonuna neden olduğu ve parazitlerin enfekte olma ve çoğalma yeteneklerini geliştirdiği bilinmektedir. Bu mekanizma parazitlerin gelişmesi, çoğalması ve enfeksiyon oluşturmaları için çok önemlidir (21). 2- Parazitler birçok geni kodlayan büyük genoma sahip ökaryot hücreler olup bazı türlerde bol miktarda antisens-RNA'lar tanımlanmıştır (22). 3- miRNA ile ortak bileşenleri paylaşan RNAi yolu bazı parazitlerde bulunmaktadır (23). 4- Birçok parazit gen ekspresyonunu düzenleyerek çevresel ve gelişimsel sinyallere cevap verebilmektedir (24).

miRNA mekanizmasının gerçekleşmesi için biyogenezinde yer alan Argonaute (AGO) ve Dicer proteinleri gerekmektedir. Karşılaştırmalı genomik yaklaşımlar ile *Trypanosoma* (T.) *congolense*, *Leishmania* (L.) *braziliensis*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis* ve *Toxoplasma gondii*'de AGO ve Dicer benzeri proteinler tanımlanmıştır (25). Bununla birlikte, *L. major*, *L. infantum*, *T. cruzi*, *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium* spp., *Theileria* spp., *Babesia bovis* ve *Eimeria tenella* genomlarında AGO ve Dicer benzeri proteinler bulunamamıştır (26). Böylece protozoon parazitlerin hepsi olmasa da bazılarının miRNA düzenleyici mekanizması içerdiği anlaşılmaktadır.

Helmintlerin değişen çevre koşullarına uyum sağlamalarını gerektiren olan karmaşık yaşam döngüleri bulunmaktadır. Bu döngülerde değişik evreler bulunmakta, bu evrelerin her birinde farklı miRNA'lar ekprese olmaktadır. Evrelere göre miRNA ekspresyonlarının değişmesi nedeniyle tanı-prognoz tayininde veya terapötik hedef olarak kullanılabilir miRNA'ların seçimi güçleşmektedir (19). Bazı parazitler ile miRNA ilişkileri aşağıda tartışılmıştır.

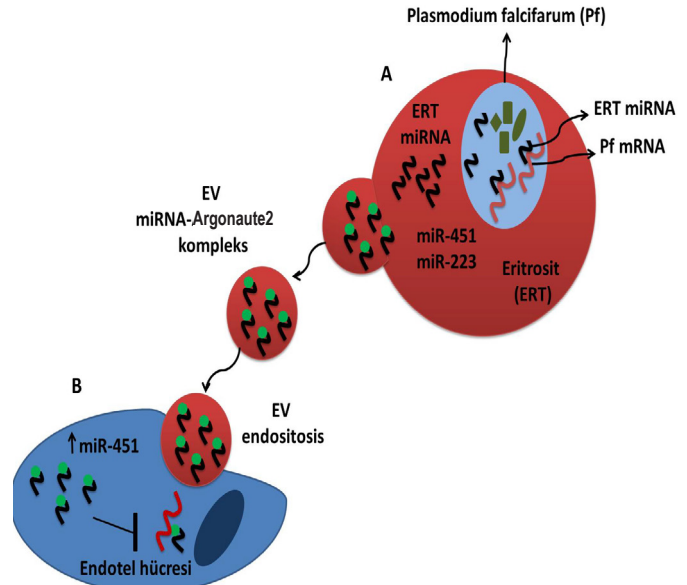
Ektoparazitler insan derisinde beslenirken hemofagositik sistem, immün sistem ve enflamatuvar sistem olmak üzere birçok bariyer sistem ile karşılaşmaktadır. Ektoparazitlerin sadece bazıları bu sistemlere direnç göstermekte ve uzun saatler boyunca kan emmeye devam edebilmektedir. Her bir ektoparazitinin farklı savunma mekanizmaları geliştirdiği ve miRNA'ların savunma stratejilerinin önemli bir kısmını oluşturduğu belirtilmektedir (27).

Plasmodium spp.

Plasmodium spp. etkenleri kanda ve karaciğer dokusunda olmak üzere iki aseksüel döngüsünü insan vücudunda; seksüel döngüsünü ise sivrisineklerde geçirmektedir. Yaşam döngüsünün başarılı bir şekilde tamamlanması için evreye özgü yüzey proteinlerinin titizlikle sentezlenmesi ve gen regülasyonunun sıkı kontrol altında olması gerekmektedir. Morfolojik evreler arasında hızlı geçiş ve konaklarda kronik enfeksiyon oluşumuna neden olan antijenik varyasyonlar transkripsiyonel, posttranskripsiyonel, translasyonel, posttranslasyonel modifikasyonlar aracılığıyla sağlanmakta ve epigenetik mekanizmalar büyük rol oynamaktadır. *Plasmodium* spp.'nin tanısında mikroskopik inceleme, moleküler araştırmalar ve antijen saptanmasına yönelik testler kullanılmaktadır. Ancak günümüzde miRNA değişikliklerinin araştırıldığı mikroarray teknolojisinin tanı ve prognoz takibinde

kullanılabileceğine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (28).

Plasmodium spp.'lerin eritrositlere girişinde ve olgunlaşmasında miRNA'ların rolü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. *Plasmodium falciparum*'un genomunda 500 gen bulunduğu ve miRNA sekansına rastlanılmadığı belirtilmiştir (29). *Plasmodium* spp.'nin immün savunma mekanizmalarından kaçabilmek için konak miRNA'larını kullanabileceği ve tanı, prognoz takibi ve tedavi hedefi olarak konak miRNA'larının saptanmasının yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle *Plasmodium* spp. enfeksiyonunda konak miRNA değişimini gösteren araştırmalar yapılmaktadır. Chamnanchanunt ve ark. (30) tarafından yapılan çalışmalarda hsa-miR-451 ve hsa-miR-16 düzeyleri *Plasmodium* spp. ile enfekte hastaların serumlarında düşük düzeylerde saptanmıştır. Baro ve ark. (31) tarafından yapılan çalışmalarda ise *Plasmodium* spp. ile enfekte hastaların serumlarında hsa-miR-221, hsa-miR-222, hsa-miR-24 ve hsa-miR-19 düzeylerinin azalmış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca taşıyıcı miRNA proteini olarak görev yapan AGO-2'nin inhibisyonu sonucunda miR-451 seviyesinde azalma meydana geldiği ve farelerde şiddetli anemi gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (32). Konakta miR-451'in eritrositlerin gelişiminde son derece gerekli olduğu ve eritrositlerin farklılaşma süresinde miktarının yükseldiği belirtilmiştir (33). LaMonte ve ark. (34) tarafından yapılan çalışmada parazit enfekte hücrelerde miR-223 ve miR451 seviyelerinde artış saptanmıştır. Sonuç olarak *Plasmodium* spp.'nin konak serumunda miR-451 seviyesinde azalmaya neden olurken, enfekte eritrositlerde miR-451'in sekestrasyonuna neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 2) (35). *Plasmodium* spp.'lerin tanısında ve



Şekil 2. *P. falciparum* enfeksiyonuna insan miRNA tepkisi (35); (A) Konak eritrosit miRNA'larının *P. falciparum*'a translokasyonu parazitin spesifik mRNA transkripsiyonunu inhibe etmektedir. (B) *Pl.falciparum* ile enfekte eritrositler tarafından salınan ekstrasellüler veziküllerlerin endotel hücresi tarafından endositozunda; miRNA- Argonaute 2 kompleksleri, endotel hücrelerde gen ekspresyonunu ve bariyer özelliklerini değiştirerek sıtma direncine katkıda bulunmaktadır

EV: Ekstrasellüler veziküller

prognoz tayininde miRNA'ların kullanılabilceği düşünölmekte ancak bu alanda yapılacak daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Leishmania spp.

Leishmania spp. visseral veya kutanöz formda enfeksiyonlara neden olabölen zorunlu intrasellöler bir parazittir. Promastigot şekli *Phlebotomus* cinsi dişi sineklerde bulunurken, amastigot şekli konak makrofajlarında bulunur. Parazitler makrofajları çoğalmak, konak savunma mekanizmalarından ve antiparaziter ilaçlardan kaçmak için kullanmaktadır. miRNA'lar parazitin konak savunma mekanizmasından korunmasında işlev yaparken, aynı zamanda konağın parazitile savaşmasında da rol oynamaktadır (36). Nahid ve ark. tarafından yapılan çalışmada *L. major* ile enfekte olan makrofajlarda miRNA ekspresyon seviyelerinde değışiklikler saptanmıştır. Bu değışikliğin en fazla enfeksiyondan sonraki 48. saatte hsa-let-7a düzeyinde meydana geldiği bildirilmiştir (37). Bunun yanında let-7 miRNA'ların solucanlardan insanlara kadar pek çok organizmada oldukça iyi korunmuş oldukları bulunmuştur (38). miRNA'lar *Leishmania* spp.'nin hücre farklılaşmasında, hücre gelişiminde ve konak doğal immün yanıtında oldukça önemli roller üstlenmektedir. Tedavi edilen enfeksiyonlarda bazı miRNA seviyelerinin azaldığı ve bu durumun doğal immün yanıt etkisinin artırdığı saptanmıştır (39).

Cryptosporidium spp.

Cryptosporidium spp. enfeksiyonu ile mücadelede hem doğal hem de kazanılmış immün yanıt etkin olarak rol almaktadır. miRNA'ların TLR-4 (Toll-like Reseptör 4) ve NF-κB (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) sinyal yolları ile beraber *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonu ile olan ilişkisi gösterilmiştir. *Cryptosporidium* spp. ile yapılan *in vitro* çalışmalarda safra yolu epitel hücrelerindeki miRNA seviyeleri ölçölmüş ve NF-κB p65'in promotörlere bağlanmasıyla mir-125b-1, mir-21, mir-30b, and mir-23b27b-24-1 genlerinin ekspresyonunda artış saptanmıştır. Bu miRNA'larda meydana gelen inhibisyonun *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonunu şiddetlendirdiği belirtilmiştir (40). Aynı çalışmada let-7 ekspresyon seviyesinde azalma saptanmış, let-7 hedefi olan TLR-4 seviyesinde artış olduğu ve daha iyi epitelyal korunma sağlandığı görölmüştür (39). Mikrobiyal enfeksiyonlar B7 ko-stimölatör sinyal moleküllerinin ekspresyonunda artışa neden olmaktadır ve immün yanıtın oluşmasında son derece önemlidir. Gong ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *in vitro* olarak *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) ile enfekte edilmiş safra yolu epitel hücrelerinde B7-H1 ekspresyonunda artış görölmüştür. *C. parvum* ile enfekte edilen hücrelerde miRNA-513 seviyesinde azalma olduğu ve B7-H1 seviyesindeki artışın doğrudan bununla ilişkili olduğu belirtilmiştir (41). *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonuna konak miRNA tepkisi şekil 3'te verilmiştir (42).

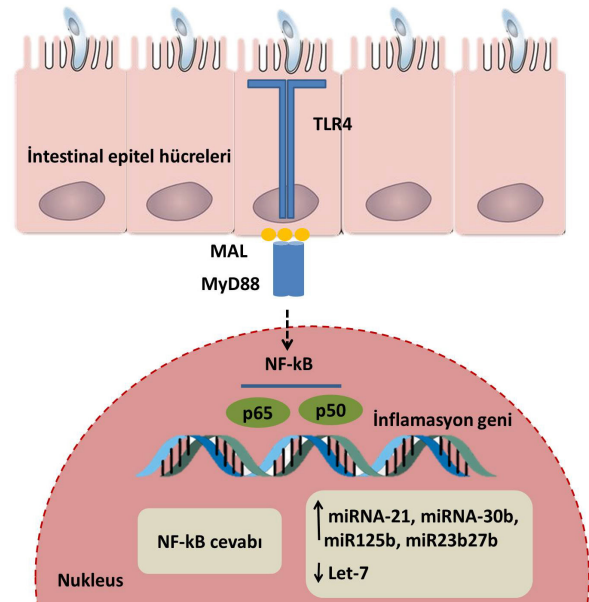
Schistosoma spp.

Schistosoma japonicum ile enfekte edilen bir fare modelinde farklı dokulardaki miRNA ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. Çalışmada ilk olarak akciğerler incelenmiş ve akciğerlerde immün ve enflamatuvar sistemin düzenleyicisi olan miR200a, miR-125a-5p, miR-150 ve miR-181a/b/c'in seviyelerinde artış saptanmıştır (43). Takiben en fazla etkilenen doku olan karaciğer üzerinde

incelemeler yapılmıştır. Karaciğerde bağışık sistem hücrelerine özgü olan miR146a/b, miR-155 ve miR-223 seviyelerinde artış görölmüştür. Bu miRNA'lardan miR-223'ün karaciğer fibrozisi ile ilişkili olduğu ve özellikle hepatopatolojiden sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışma miR-223'ün antişistozomal tedavide hepatik fibrozisi azaltmak için ilaç hedefi olarak kullanılması imkanını sunmaktadır (44).

Echinococcus spp.

Ekinokokkozlar ihmal edilmiş zoonotik hastalıklardan olup dünyada ve ölkemizde önemli halk sağlığı sorunları arasında yer almaktadır. Tanısında radyolojik, patolojik, serolojik ve moleküler tetkikler kullanılmaktadır; ancak erken tanı ve prognostakibi için kullanılabilcek biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Alizadeh ve ark. tarafından yapılan çalışmada kist hastası ve sağlıklı kişilerin serumlarında egr-miR-71 ve egr-let-7 miRNA'lar araştırılmıştır. Kist hastalarının ve sağlıklı gönüllülerinin serumlarında miRNA düzeyleri arasında belirgin farklılık saptanmıştır. Ayrıca hastaların ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası dönemlerinde miRNA'lar arasında, özellikle egr-miR-71 açısından belirgin bir farklılık saptanmış ve egr-miR-71'in kist hastalarının takibinde rekürrensleri saptamada biyobelirteç olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır (45). Mariconti ve ark. tarafından yapılan çalışmada kist hastalarının serum örnekleri toplanmıştır. Ultrasonografi ile hastaların kistlerinin evlendirmesi yapılmış; kistler aktif ve inaktif olarak iki kategoriye ayrılmıştır. Moleküler testler ile 84 miRNA'nın ekspresyon düzeyi incelenmiş ve aktif-inaktif kistler arasında sekiz miRNA (let-7g-5p, let-7a5p, miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-195-5p, miR-16-5p, miR-30c-5p ve miR-223-3p) düzeyinde belirgin farklılık görölmüştür (46). Ren ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada alveolar ekinokokkoz hastalarının karaciğerindeki enfekte ve sağlam alanlardan



Şekil 3. *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonuna konak miRNA tepkisi (42); Enfekte farelerin epitel hücrelerinde miRNA'lar, TLR/NF-κB sinyalleri üzerinden etki göstermektedir. Parazit NF-κB geninin düzenlenmesinde görev alan miRNA'ları değıştirmekte ve bu gen tarafından düzenlenen bağışıklık veya inflamatuvar genleri hedeflemektedir

örnekler toplanmış ve bu örneklerde miRNA'lar mikroarray yöntemi ile araştırılmıştır. Analiz sonucunda dört miRNA'nın ekspresyon düzeylerinde farklılık saptanmış; miR1237-3p, miR-33b-3p ve miR-483-3p seviyelerinde artış saptanırken miR-4306 seviyesinde azalma tespit edilmiştir. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu sonuçlarına göre enfekte karaciğer bölgelerinden alınan doku örneklerinde özellikle miR-483-3p seviyelerinde de artış görülmüştür. Bu nedenle miR-483-3p'nin ekinokokkoz erken tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. miR-483-3p ile yapılan çalışmalarda bu miRNA'nın aynı zamanda yara iyileşmesi, kanser gelişmesi, endotelial rejenerasyon, diyabet ile ilişkili kardiyak hastalıkta da rolü olduğu gösterilmiştir (47).

İlaç duyarlılığını öngörmeye miRNA'ların kullanılabilirliğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Kistik ekinokokkozun tedavisinde albendazol sülfoksit kullanılmakta olup, albendazole alternatif bir ilaç bulunmamaktadır. Şu ana kadar insanlarda kistik ekinokokkozun tedavisinde albendazole direnç rapor edilmemiştir; ancak fare modellerinde yapılan çalışmalarda direnç gelişme potansiyeli olduğu gösterilmiştir (48). Ekinokokkoz tedavisinde albendazolün parazitin larval formunda daha etkili, erişkin formlarına ise etkisiz olduğu bilinmektedir. Mortezaei ve ark. tarafından yapılan *in vitro* çalışmada kist hastalarında albendazol tedavisi uygulanan farklı evrelerde bulunan *Echinococcus granulosus* let-7 ve miR61 düzeylerindeki değişim incelenerek albendazol duyarlılığının belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılabilir potansiyeli araştırılmıştır. Albendazol tedavisi sonucunda let-7 ekspresyon seviyesi; larva ve mikrokist formunda azalırken, erişkin formlarda artış göstermiştir. Albendazol tedavisi uygulanan protoskolekslerde miR61 ekspresyon düzeylerinde artış saptanırken, erişkin formlarda ve mikrokist formlarında azalma eğilimi olduğu görülmüştür. Ayrıca tedaviden dört gün sonra kist formlarında hem let-7 hem miR61 düzeylerinde azalma saptanmıştır (49). Bu iki miRNA seviyesindeki değişikliğin tedavi takibinde biyobelirteç adayları olarak kullanılabilirliği için *in vivo* çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Keneler

Keneler oldukça uzun bir süre kan emme kapasitesine sahip artropodlar veya ektoparazitler olarak bilinmektedir. Deriyi delmek için ağız parçalarını kullanmakta ve tükürüklerinde çok sayıda enzim bulunmaktadır. Son otuz yıldır moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte kenelerin tükürük komponentlerini araştırarak çalışmalar yapılmaktadır. Transkriptomik ve proteomik çalışmalar sonucunda kenelerin tükürüğünde çok sayıda miRNA gösterilmiştir (50). miR-8-3p, bantam-3p, mir-317-3p ve miR-279a-3p kene-konak etkileşimini sağlayan miRNA'lar arasında yer almaktadır (51). Kenelerde miRNA'ların fonksiyonlarını belirlemek ve patojenitesi ile ilgili miRNA'ları saptamak için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Sivrisinekler

Sivrisineklerin gelişiminde, metabolizmasında ve insektisitlere karşı direnç gelişmesinde miRNA'ların rolü olduğu bilinmektedir. Lei ve ark. (52) tarafından piretroidlere dirençli ve duyarlı *Culex pipiens* suşlarında miRNA ekspresyonları araştırılmış ve duyarlı suşlarda miR-278-3p'nin daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir. Hong ve ark. (53) tarafından yapılan diğer bir

çalışmada deltametrim dirençli suşlarda çpi-miR-71 düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Sivrisineklerde bulunan miRNA'ların konak parazit etkileşiminde önemli roller üstlendiği bilinmektedir. Arca ve ark. tarafından *Anopheles coluzzi*'nin tükürüğünde bulunan ve konak derisine enjekte edilen miRNA'lar araştırılmış ve ekspresyon seviyesi en yüksek olan on tanesi belirlenmiştir. Bu miRNA'ların konak derisindeki genlere bağlandığı ve immün sistemi düzenlediği gösterilmiştir (54). miRNA'ların vektörlerin kontrolünde kullanılabilirliği ancak bunun için daha fazla çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir.

SONUÇ

miRNA'ların keşfinden günümüze kadar yeni nesil dizileme ve moleküler tekniklerin gelişmesi sayesinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. miRNA'ların hücre içi fonksiyonları açıklanmış ve kanser, metabolik, nörodejeneratif, enfeksiyon gibi birçok hastalıkla ilişkisi ortaya konulmuştur. Kanda veya vücut sıvılarında artan ve azalan ekspresyon seviyelerinin tespit edilmesi sonucunda hastalıkların erken tanısı, prognoz takibinde biyobelirteç olarak, ayrıca bazı hastalıklarda ilaç hedefi olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür. miRNA'ların parazitlerin özellikle *E.granulosus*'un albendazol duyarlılığını öngörmeye prediktif olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir. Paraziter enfeksiyonlar ile ilgili biyobelirteç konusunda çeşitli miRNA çalışmaları yapılmış ancak bulunan bazı miRNA'ların rutin olarak kullanılmasında birtakım sıkıntılarla karşılaşmıştır. Bunun en önemli nedeni olarak; farklı parazit türlerinde aynı miRNA'ların bulunması veya aynı parazitin farklı evrelerinde değişik miRNA'ların saptanması olarak belirtilmektedir. Bu alanda yapılacak ileri çalışmalara gereksinim duyulmakta olup, çalışmalarda bulunan biyobelirteç adayları miRNA'ların geniş bir hasta popülasyonunda denedikten sonra rutin kullanıma girebileceği düşünülmektedir.

* Etik

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: A.C., Ö.U.B., Konsept: A.C., Ö.U.B., Dizayn: A.C., Ö.U.B., Veri Toplama veya İşleme: A.C., Ö.U.B., Analiz veya Yorumlama: A.C., Ö.U.B., Literatür Arama: A.C., Ö.U.B., Yazan: A.C., Ö.U.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Yao Q, Chen Y, Zhou X. The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Current Opinion in Chemical Biology* 2019;51:11-7.
2. Zeng Y, Cullen BR. RNA interference in human cells is restricted to the cytoplasm. *RNA* 2002;8:855-60.
3. Sudarsana Reddy L, Sarojamma V, Ramakrishna V. Future of RNAi in Medicine: A Review. *World Journal of Medical Sciences* 2007;2:1-14.
4. Van der Krol AR. Flavonoid Genes in Petunia: Addition of a Limited Number of Gene Copies May Lead to a Suppression of Gene Expression. *The Plant Cell Online* 1990;2:291-9.

5. Horvitz HR, Sulston JE. Isolation and genetic characterization of cell-lineage mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1980;96:435-54.
6. Ambros V, Horvitz HR. The lin-14 locus of *Caenorhabditis elegans* controls the time of expression of specific postembryonic developmental events. *Genes Dev* 1987;1:398-414.
7. Ferguson EL, Sternberg PW, Horvitz HR. A genetic pathway for the specification of the vulval cell lineages of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1987;326:259-67.
8. Lee R, Feinbaum R, Ambros V. A short history of a short RNA. *Cell* 2004;116:89-92.
9. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res* 2011;717:1-8.
10. Zhou X, Yang PC. MicroRNA: A Small Molecule with a Big Biological Impact. *MicroRNA* 2012;1:1.
11. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116: 281-297.
12. Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burger CB, Bartel DP. Vertebrate MicroRNA Genes. *Science* 2003;299:1540.
13. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:509-24.
14. Broughton JP, Lovci MT, Huang JL, Yeo GW, Pasquinelli AE. Pairing beyond the Seed Supports MicroRNA Targeting Specificity. *Mol Cell* 2016;64:320-33.
15. Vasudevan S. Posttranscriptional upregulation by microRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2012;3:311-30.
16. Cai P, Gobert GN, McManus DP. MicroRNAs in Parasitic Helminthiases: Current Status and Future Perspectives. *Trends Parasitol* 2016;32:71-86.
17. Hu G, Drescher KM, Chen XM. Exosomal miRNAs: biological properties and therapeutic potential. *Front Genet* 2012;3:56.
18. Rossi RL, Rossetti, G, Wenandy L, Curti, S, Ripamonti A, Bonnal RJP, et al. Distinct microRNA signatures in human lymphocyte subsets and enforcement of the naive state in CD4+ T cells by the microRNA miR-125b. *Nature Immunology* 2011;12:796-803.
19. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions and Circulation. *Front Endocrinol* 2018;9:402.
20. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005;120:15-20.
21. Ong SJ, Hsu HM, Liu HW, Chu CH, Tai JH. Multifarious transcriptional regulation of adhesion protein gene ap65-1 by a novel Myb1 protein in the protozoan parasite *Trichomonas vaginalis*. *Eukaryot Cell* 2006;5:391-9.
22. Zamore PD. Ancient pathways programmed by small RNAs. *Science* 2002;296:1265-9.
23. Blackman MJ. RNAi in protozoan parasites: what hope for the Apicomplexa? *Protist* 2003;154:177-180.
24. Jolly ER, Chin CS, Miller S, Bahgat MM, Lim KC, DeRisi J, et al. Gene expression patterns during adaptation of a helminth parasite to different environmental niches. *Genome Biology* 2007;8:R65.
25. Krautz-Peterson G, Skelly PJ. *Schistosoma mansoni*: the dicer gene and its expression. *Exp Parasitol* 2008;118:122-8.
26. Militello KT, Refour P, Comeaux CA, Duraisingh MT. Antisense RNA and RNAi in protozoan parasites: Working hard or hardly working? *Molecular and Biochemical Parasitology* 2008;157:117-26.
27. Kazimírová M, Štibrániová I. Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission. *Front Cell Infect Microbiol* 2013;3:43.
28. Cohen A, Combes V, Grau GER. MicroRNAs and Malaria - A Dynamic Interaction Still Incompletely Understood. *J Neuroinfect Dis* 2014;5:165.
29. Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, et al. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2002;419:498-511.
30. Chamnanchanunt S, Kuroki C, Desakorn V, Enomoto M, Thanachartwet V, Sahassananda D, et al. Downregulation of plasma miR-451 and miR-16 in *Plasmodium vivax* infection. *Experimental Parasitology* 2015;155:19-25.
31. Baro B, Deroost K, Raiol T, Brito M, Almeida ACG, de Menezes-Neto, et al. *Plasmodium vivax* gametocytes in the bone marrow of an acute malaria patient and changes in the erythroid miRNA profile. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2017;11:e0005365.
32. Rathjen T, Nicol C, McConkey G, Dalmay T. Analysis of short RNAs in the malaria parasite and its red blood cell host. *FEBS Lett* 2006;580:5185-8.
33. Svasti S, Masaki S, Penglong T, Abe Y, Winichagoon P, Fucharoen S, et al. Expression of microRNA-451 in normal and thalassemic erythropoiesis. *Ann Hematol* 2010;89:953-8.
34. LaMonte G, Philip N, Reardon J, Lacsina JR, Majoros W, Chapman L, et al. Translocation of sickle cell erythrocyte microRNAs into *Plasmodium falciparum* inhibits parasite translation and contributes to malaria resistance. *Cell Host Microbe* 2012;12:187-99.
35. Bayer-Santos E, Marini MM, da Silveira JF. Non-coding RNAs in Host-Pathogen Interactions: Subversion of Mammalian Cell Functions by Protozoan Parasites. *Front Microbiol* 2017;8:474.
36. Duclos S, Desjardins M. Subversion of a young phagosome: the survival strategies of intracellular pathogens. *Cell Microbiol* 2000;12:365-77.
37. Hashemi N, Sharifi M, Tolouei S, Hashemi M, Hashemi C, Hejazi SH. Expression of hsa Let-7a MicroRNA of macrophages infected by *Leishmania major*. *Int J Med Res Health Sci* 2016;5:27-32.
38. Boyerinas B, Park S-M, Hau A, Murmann AE, Peter ME. The role of let-7 in cell differentiation and cancer. *Endocrine-related cancer* 2010;17:F19-F36.
39. Chen XM, Splinter PL, O'Hara SP, LaRusso NF. A cellular micro-RNA, let-7i, regulates Toll-like receptor 4 expression and contributes to cholangiocyte immune responses against *Cryptosporidium parvum* infection. *Journal of Biological Chemistry* 2007;282:28929-38.
40. Zhou R, Hu G, Liu J, Gong AY, Drescher KM and Chen XM. NFκB p65-dependent transactivation of miRNA genes following *Cryptosporidium parvum* infection stimulates epithelial cell immune responses. *PLoS Pathog* 2009;5:e1000681.
41. Gong A, Zhou R, Hu G, Liu J, Sosnowska D, Drescher KM, et al. *Cryptosporidium parvum* Induces B7-H1 Expression in Cholangiocytes by Down-Regulating MicroRNA-513. *The Journal of Infectious Diseases* 2010;201:160-9.
42. Judice CC, Bourgard C, Kayano AC, Albrecht L, Costa FT. MicroRNAs in the Host-Apicomplexan Parasites Interactions: A Review of Immunopathological Aspects. *Front Cell Infect Microbiol* 2016;6:5.
43. Han H, Peng J, Hong Y, Zhang M, Han Y, Liu D, et al. MicroRNA expression profile in different tissues of BALB/c mice in the early phase of *Schistosoma japonicum* infection. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2013;188:1-9.
44. He X, Sai X, Chen C, Zhang Y, Xu X, Zhang D, et al. Host serum miR-223 is a potential new biomarker for *Schistosoma japonicum* infection and the response to chemotherapy. *Parasit Vectors* 2013;6:272.
45. Alizadeh Z, Mahami-Oskoue M, Spotin A, Kazemi T, Ahmadpour E, Cai P, et al. Parasite-derived microRNAs in plasma as novel promising biomarkers for the early detection of hydatid cyst infection and post-surgery follow-up. *Acta Tropica* 2019;105255.
46. Mariconti M, Vola A, Manciuoli T, Genco F, Lissandrin R, Meroni V, et al. Role of microRNAs in host defense against *Echinococcus granulosus* infection: a preliminary assessment. *Immunologic Research* 2019;67:93-97.

47. Ren B, Wang H, Ren L, Yangdan C, Zhou Y, Fan H, et al. Screening for microRNA-based diagnostic markers in hepatic alveolar echinococcosis. *Medicine* 2019;98:e17156.
48. Morris DL, Taylor DH. *Echinococcus granulosus*: development of resistance to albendazole in an animal model. *Journal of Helminthology* 1990;64:171.
49. Mortezaeia S, Afgara A, Mohammadia MA, Mousavia SM, Sadeghib B, Harandia MF. The effect of albendazole sulfoxide on the expression of miR-61 and let-7 in different in vitro developmental stages of *Echinococcus granulosus*. *Acta Tropica* 2019;195:97-102.
50. Sonenshine D. The Biology of Tick Vectors of Human Disease,. In: Goodman J, Dennis D, Sonenshine D, editors. *Tick-Borne Diseases of Humans*. ASM Press: Washington DC; 2005.p.12-36.
51. Hackenberg M, Langenberger D, Schwarz A, Erhart J, Kotsyfakis M. In silico target network analysis of de novo-discovered, tick saliva-specific microRNAs reveals important combinatorial effects in their interference with vertebrate host physiology. Cold Spring Harbor Laboratory Press for the RNA Society 2017;23:1259-69.
52. Lei Z, Lv Y, Wang W, Guo Q, Zou F, Hu S, et al. MiR-278-3p regulates pyrethroid resistance in *Culex pipiens pallens*. *Parasitology Research* 2014;114:699-706.
53. Hong S, Guo Q, Wang W, Hu S, Fang F, Lv Y, et al. Identification of differentially expressed microRNAs in *Culex pipiens* and their potential roles in pyrethroid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 2014;55:39-50.
54. Arcà B, Colantoni A, Fiorillo C, Severini F, Benes V, Di Luca M, et al. MicroRNAs from saliva of anopheline mosquitoes mimic human endogenous miRNAs and may contribute to vector-host-pathogen interactions. *Sci Rep* 2018;9:2955.