

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GENETİK JENERALİZE EPİLEPSİLERDE
BİYOBELİRTEÇ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Simay BOZKURT

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fahri AKBAŞ

ARALIK 2023

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GENETİK JENERALİZE EPİLEPSİLERDE
BİYOBELİRTEÇ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Simay BOZKURT
(215309006)**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fahri AKBAŞ

ARALIK 2023

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 215309006 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Simay BOZKURT, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “GENETİK JENERALİZE EPİLEPSİLERDE BİYOBELİRTEÇ BELİRLENMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Fahri AKBAŞ**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Ferda USLU**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Emrah YÜCESAN

İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa

Teslim Tarihi : 25 Aralık 2023

Savunma Tarihi : 11 Aralık 2023

Epilepsi ile m¼cadele edenlere,



ÖNSÖZ

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Programı'nda yapmış olduğum yüksek lisans tez çalışmamda tez danışmanlığımı üstlenen ve her sürecinde yardımcı olan danışmanım Prof. Dr. Fahri Akbaş'a,

Tez kapsamında incelenen bireylerin klinik bilgilerini tarafımıza ileten Doç. Dr. Ferda Uslu'ya ve çalışmamıza katılan bireylere,

2020 yılında lisans tezimin fikrini vererek nörojenetik alanında kendimi bulmama aracı olan, ilerisinin her zaman çok güzel olacağını söyleyen Prof. Dr. Ebru Kolsal'a,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca verdiği enerjisiyle her şeyi başarabileceğime inandıran Mol. Bio. Simge Dinç'e,

Ortaokul, lise ve üniversite döneminde tesadüfen sürekli yollarımızın kesişmesiyle her anımda bana moral ve destek veren canım arkadaşım Dr. Melike Karacabay'a,

Yüksek lisans eğitimim dahil hayatımın her anında yanımda olan Dilara Boğatekin'e, Beyza Yeşil'e, Derya Kaytaç'a, Funda Özyürek'e ve Özge Geyin'e,

Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, desteğini ve yardımlarını benden esirgemeyen, her zaman arkamda duran en büyük servetim aileme,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana yol göstererek, her zaman güvenip inanarak hem akademik alanda hem de hayatın her alanında sahip olduğu değerli bilgi birikimiyle bana kattıklarından ve katacaklarından ötürü çok kıymetli hocam Doç. Dr. Emrah Yücesan'a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 20230205 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Aralık 2023

Simay Bozkurt
(Moleküler Biyolog)

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 çalışmasıyla 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.

Simay Bozkurt

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
BEYAN	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	x
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Epilepsi.....	3
2.1.1 Tarihçe.....	3
2.1.2 Tanım	7
2.1.3 Epidemiyoloji.....	7
2.1.4 Mekanizma / Patofizyoloji	7
2.1.5 Etiyoloji.....	8
2.1.6 Sınıflandırma.....	9
2.1.7 Genetik jeneralize epilepsi (GJE).....	10
2.1.8 Epilepsi genetiği.....	11
2.2 MikroRNA (miRNA)	12
2.2.1 Tanım ve tarihçe.....	12
2.2.2 MikroRNA biyogenezi.....	14
2.2.3 Biyobelirteç olarak mikroRNA'lar	16
2.2.4 MikroRNA'lar ve epilepsi	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1 Gereç	19
3.1.1 Çalışma kapsamında incelenen bireyler	19
3.1.2 Çalışmada kullanılan çözeltiler	19
3.1.3 Çalışmada kullanılan kitler	20
3.1.4 Çalışmada kullanılan cihazlar ve gereçler.....	20
3.1.5 Çalışmada incelenen primerler.....	21
3.2 Yöntem.....	22
3.2.1 Periferik kandan total RNA eldesi	22
3.2.2 Total RNA'dan komplementer DNA (cDNA) eldesi	22
3.2.3 Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR).....	23
3.2.4 İstatiksel analizler.....	25
4. BULGULAR	26
4.1 MikroRNA Ekspresyon Seviyeleri ve ROC Analizi.....	26

5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	43
EKLER.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	53



KISALTMALAR

ADNFLE	: Otozomal Dominant Noktürnal Frontal Lob Epilepsisi
AEİ	: Antiepileptik İlaç
AGO	: Argonaute
ASO	: Antisens Oligonükleotid
AUC	: Eğri Altındaki Alan
cDNA	: Komplementer Deoksiribonükleik Asit
C. elegans	: Caenorhabditis elegans
CNV	: Kopya Sayısı Varyantları
ÇAE	: Çocukluk Çağı Absans Epilepsi
DAPK1	: Ölümle İlişkili Protein Kinaz 1
DGCR8	: DiGeorge Sendromu Kritik Bölge Geni 8
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DZ	: Dizigot
E	: Eksitasyon
EEG	: Elektroensefalografi
GAMA	: Gama-Aminobütirik asit
GJE	: Genetik Jeneralize Epilepsi
HS	: Hipokampal Skleroz
I	: İnhibisyon
ILAE	: Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
JAE	: Jüvenil Absans Epilepsi
JME	: Jüvenil Miyoklonik Epilepsi
miRNA	: MikroRNA
mRNA	: Haberci RNA
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MZ	: Monozigot
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
OSB	: Otizm Spektrum Bozukluğu
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
Pre-miRNA	: Öncül MikroRNA
Pri-miRNA	: Birincil MikroRNA
RISC	: RNA Kaynaklı Susturma Kompleksi
RNA	: Ribonükleik Asit
RNAaz	: Ribonükleaz
ROC	: Alıcı İşletim Karakteristiği
SE	: Status Epileptikus
SMA	: Spinal Musküler Atrofi
TLE	: Temporal Lob Epilepsisi
VEGFR-2	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Reseptörü 2
VNS	: Vagus Sinir Stimülasyonu
YND	: Yeni Nesil Dizileme
HMGA1	: Yüksek Hareketli Grup Protein İzofomları 1
XPO5	: Exportin-5

qRT-PCR

: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu



SEMBOLLER

μg : Mikrogram
 μl : Mikrolitre
 μM : Mikromolar



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Kullanılan çözeltiler.....	19
Tablo 3.2: Kullanılan kitler ve tedarikçi firmalar.	20
Tablo 3.3: Kullanılan cihazlar ve gereçler.	20
Tablo 3.4: Kullanılan primerlerin dizileri.	21
Tablo 3.5: cDNA dönüşümü yapılırken kullanılan reaktifler ve miktarları.....	23
Tablo 3.6: qRT-PCR reaksiyonu hazırlanırken kullanılan reaktifler ve miktarları. ..	24
Tablo 3.7: qRT-PCR'da kullanılan döngü parametreleri.	24
Tablo 4.1: miR-106b ROC analizi.	27
Tablo 4.2: miR-130a-3p ROC analizi.	29
Tablo 4.3: miR-194-5p ROC analizi.....	31

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: Epilepsilerin sınıflandırılması.	10
Şekil 2.2: miRNA biyogenez yolağı.	15
Şekil 3.1: RNA izolasyonu basamakları.	22
Şekil 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının miR-106b ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.....	26
Şekil 4.2: miR-106b ROC eğrisi analizi.....	27
Şekil 4.3: Hasta ve kontrol gruplarının miR-130a-3p ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 4.4: miR-130a-3p ROC eğrisi analizi.....	29
Şekil 4.5: Hasta ve kontrol gruplarının miR-194-5p ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.....	30
Şekil 4.6: miR-194-5p ROC eğrisi analizi.....	31

GENETİK JENERALİZE EPİLEPSİLERDE BİYOBELİRTEÇ BELİRLENMESİ

ÖZET

Giriş: Genetik Jeneralize Epilepsiler (GJE) tüm epilepsilerin yaklaşık dörtte birini kapsamakta olup, yapısal beyin bulgusu göstermeyen genetik epilepsi grubu olarak tanımlanmaktadır. GJE tanısında kullanılan spesifik bir genetik biyobelirteç bulunmamaktadır. Genetik biyobelirteçlerin en bilineni ve üzerinde en fazla araştırma yürütüleni mikroRNA'larıdır (miRNA). Daha önce birçok epilepsi hastasının incelendiği çalışmalarda miRNA alt tipleri olan miR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p incelenmiş olup sağlıklı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak ekspresyon seviyelerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur. Çalışmamızda GJE hastalarında miR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p ekspresyon düzeyleri incelendi ve olası aday genetik biyobelirteç potansiyellerinin belirlenmesi amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya GJE tanılı 21 hasta ve 18 sağlıklı kontrol dahil edildi ve bireylerin kan örneklerinden toplam RNA izole edildi. Elde edilen RNA'lardan cDNA sentezi yapıldı. MiR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile analiz edildi. U6 *housekeeping* gen olarak kullanıldı. Belirtilen miRNA'ların tanısal değerini değerlendirmek için alıcı işletim karakteristiği (ROC) analizi ile eğri altındaki alan (AUC) değerleri hesaplandı ve p değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar: MiR-130a-3p'nin ekspresyon seviyesi, kontrol grubuna kıyasla hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$). ROC analizinde belirlenen AUC değeri 0,725'tir. Ancak miR-106b ve miR-194-5p'nin ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı değildir. ROC analizindeki AUC değerleri sırasıyla 0,648 ve 0,571'dir.

Tartışma: Çalışmamızda kullandığımız miRNA'ların değişen ekspresyon seviyeleri, GJE'nin etiyopatogenezi ile ilişkili olabilir. Bulgularımız, GJE tanısı ve prognozu için potansiyel bir biyobelirteç olarak miR-130a-3p'nin kullanılmasını önermektedir.

Anahtar Kelimeler : Genetik biyobelirteç, Genetik jeneralize epilepsi, MikroRNA, ROC eğrisi.

BIOMARKER DETECTION IN GENETIC GENERALIZED EPILEPSIES

SUMMARY

Introduction: Genetic Generalized Epilepsies (GGE) encompass approximately one-fourth of all epilepsies and are defined as a genetic epilepsy group that does not exhibit structural brain findings. There is no specific genetic biomarker used in the diagnosis of GGE. The most well-known genetic biomarkers, with the most research conducted on them, are microRNAs (miRNA). In previous studies examining many epilepsy patients, miRNA subtypes including miR-106b, miR-130a-3p, and miR-194-5p have been investigated, and it has been found that their expression levels statistically differ from those in a healthy control group. In our study, we examined the expression levels of miR-106b, miR-130a-3p, and miR-194-5p in GGE patients and aimed to determine potential candidate genetic biomarkers.

Methods: 21 patients with isolated GGE and 18 healthy controls were recruited in this study and total RNA was extracted from blood samples of participants. cDNA synthesis was performed from the obtained RNAs. MiR-106b, miR-130a-3p, and miR-194-5p expression levels were analyzed by qRT-PCR, using U6 as a housekeeping gene. Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis was used to evaluate the diagnostic value of the specified miRNAs, and the area under the curve (AUC) values were calculated, with a p-value less than 0.05 considered statistically significant.

Results: The expression level of miR-130a-3p has shown statistically significant increase in patients compared to controls ($p < 0.05$). The AUC value determined in the ROC analysis is 0.725. However, the expression levels of miR-106b and miR-194-5p are not detected statistically significant. Their AUC values in the ROC analysis are 0.648 and 0.571, respectively.

Conclusion: The varying expression levels of miRNAs that we used in our study may be associated with the etiopathogenesis of GGE. Our findings suggests using miR-130a-3p as potential biomarker in the diagnosis and prognosis of GGE.

Keywords: Genetic biomarker, Genetic generalized epilepsy, MicroRNA, ROC curve.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Genetik Jeneralize Epilepsi (GJE), altta yatan herhangi bir yapısal beyin lezyonu ya da başka nörolojik belirti olmaksızın, genetik etiyolojiye sahip olan epilepsi alt grubudur. GJE'lerin hem yaygın hem de nadir olan tipleri vardır ve birlikte tüm epilepsilerin %15 ila %20'sini oluşturmaktadırlar. GJE'ler, tek gen bozuklukları, kopya sayısı varyantları (CNV) ve yaygın varyantlar gibi farklı genetik varyant türleri ile ilişkilendirilmektedir. Tipik absans, miyoklonik ve jeneralize tonik-klonik nöbetler GJE hastalarında görülen ana nöbet tipleridir [1].

GJE tanısında, nöbet tipi, nöbetlerin başlangıç yaşı ve elektroensefalografi (EEG) gibi klinik özellikler birlikte değerlendirilmektedir. Farmakodirenç, gelişimsel gecikme veya zihinsel yetersizlikle birlikte seyreden GJE hastalarında, klinik değerlendirmenin yanında, nörogörüntüleme ve genetik testler ile daha ileri düzeyde incelemeler yapılmaktadır. Ancak genellikle bu yöntemler GJE teşhisi için yeterli olmayıp ekonomik açıdan da çeşitli dezavantajlara sahiptir. Bu sebeple girişimsel olmayan, güvenilir ve ekonomik biyobelirteçlerin daha doğru teşhise, takibe ve sonrasında doğru tedaviye olanak sağlayacağı düşünülmektedir [2].

Özellikle tanı ve takip süreçlerinde kullanım potansiyelleri olan mikro RNA'lar (miRNA'lar) bu bağlamda önemlidir. 2008 yılında, miRNA'lar potansiyel bir genetik biyobelirteç sınıfı olarak ortaya çıkmıştır. Bu molekül, gen ekspresyon modülasyonu yoluyla nöronal biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir role sahip küçük, kodlayıcı olmayan RNA'lardır. Bilinen tüm miRNA'ların yarısından fazlasının beyinde eksprese edilmesinin yanı sıra epilepsi hastalarının serumunda 100'den fazla tanımlanmış miRNA'nın düzensizliği bildirilmiştir ve bunlar epileptogenez süreci ile ilişkilidir. Bu bulgular, miRNA'ların epilepsi için potansiyel tanısal genetik biyobelirteç ve potansiyel bir terapötik hedef olarak kullanılabileceğini desteklemektedir [2, 3]. Günümüzde GJE tanısına ve takibine katkı sağlayan ve yaygın olarak kullanılan spesifik bir genetik biyobelirteç yoktur.

Bu doğrultuda, sunulan tez çalışmasında GJE hastalarında miRNA alt tiplerinin ekspresyon düzeyleri incelenerek, GJE tanısında miRNA'ların genetik biyobelirteç olarak kullanılabilmesinin ve klinik pratikteki uygulamasının olanaklılığı araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Epilepsi

2.1.1 Tarihçe

Tarihte en çok isimlendirilen hastalıkların başında epilepsinin geldiği bilinmektedir. Öyle ki; Babil lehçesinde epilepsiyi tanımlamak için “sibtu”, Akkadca dilinde "mitqu", Sümerce dilinde ise “antasubba” kelimeleri kullanılmıştır. Eski Çin metinlerinde “xian” ya da “dian”, eski Hint metinlerinde “apasmara”, Antik Yunan’da ise "epilambanesthai" olarak adlandırılmıştır. Eski Mısır uygarlığında tıbbi metinlerin yer aldığı Ebers ve Hearts papirüslerinde epilepsiye kötü ruhlar ya da şeytanların neden olduğu yazılmıştır. Tedavi yöntemi olarak da tütsü veya dua gibi uygulamaların kullanıldığı bilinmektedir. Babilli hekimlere göre epilepsinin sebebi, hayaletler ve iblislerdir. Hekimler epilepsiyi doğüstü olaylarla ilişkilendirmiş olsalar da, tabletlerinde yazan bilgilere göre epileptik nöbet tiplerini tanımlamaya çalışmışlar ve epilepsiyi tetikleyen etkenler arasında az uyku ya da duygusal nedenlerin olduğunu düşünmeleri, hekimlerin bazı doğru yaklaşımlar yaptığını göstermektedir. Eski Mezopotamya’da “tüm hastalıklar” anlamına gelen ve yaklaşık kırk tableten oluşan “Sakikku” kil tabletleri günümüzde Britanya Müzesi’ndeki “Babil Koleksiyonu” na ait olan (M.Ö. 1000) ve Şanlıurfa yakınlarındaki Sultantepe Köyü’nde bulunan Yeni-Asur yazısıyla yazılmış (İ.Ö. 718-612) tabletlerdir. Bahsedilen tabletlerin bir kısmı doğrudan epilepsi ile ilgilidir [4].

Eski Çin kültüründe ise Eski Mısır ve Babillilerin aksine, epilepsinin ve nöbetlerin doğüstü olaylarla bir ilişkisinin olmadığı düşünülmüştür. Çince de epilepsi anlamına gelen “dian” kelimesi “düşüren hastalık” demektir. Epileptik nöbetler anlamına gelen “xian” kelimesinin anlamı ise çırpınma ve katılmadır [5]. Çinli hekimler tarafından yazıldığı bilinen bir tıbbi yazıtta, epilepsi etiyolojisi hakkında bir açıklama bulunmaktadır.

Bu açıklamada epilepsinin sebebinin, doğum öncesi dönemde hamile olan kişinin kötü bir şekilde korkutulması sonucunda yaşadığı şok olduğunu yazmışlardır. Epilepsi tedavisi olarak tıbbi bitkilerin kullanılması, akupunktur ve masaj yapılması gibi yöntemler uygulanmıştır [5].

“Ayurveda”, Hindistan'da yaşam bilimi anlamına gelen dünyadaki en eski tıp sistemidir. Eski Hint tıp sisteminde epilepsi “Apasmara” olarak adlandırılmıştır [6]. Ayurveda'da "Dosha" denilen üç farklı yaşam enerjisi tipi bulunur. Bunlar VATA Dosha, PITTA Dosha ve KAPHA Doshadır. Sağlıklı bir insanda doshalar bir homeostaz durumundayken, doshaların homeostazının herhangi bir şekilde bozulması hastalığa yol açabilmektedir. Hastalığın tipi bozulan doshanın tipine bağlıdır. Ayurveda prensibine göre epilepsinin nedenlerinin hem içsel hem de dışsal nedenlerden kaynaklandığı ve dört tipte sınıflandırıldığı bilinmektedir. İlk üç tipi, üç doshadan (pitta, vata ve kapha) herhangi birinin bozulması ile oluşur. Dördüncü tip ise bu üç doshanın hepsinin bozulmasıyla oluşmaktadır [6]. Pitta doshanın bozulmasıyla Pattika tip epilepsisi meydana gelir. Hastada aşırı sıcaklık ve susama hissi duyulur ve bu semptomlara eşlik eden ağızda köpürme ve yerde çırpınma meydana gelir. Kapha doshanın bozulmasına Kaphaja tip epilepsi denir. Kaphaja tip epilepside hasta aura ile birlikte soğuk ve ağrı hisseder, objeleri beyaz şekilde görür. Bu belirtilere ek olarak düşme ve köpürme eşlik eder. Vata doshanın bozulmasına Vatika tip epilepsi denir. Bu tip epilepside ağlama, hızlı nefes alıp verme ve bilinçsizlik hali gibi ataklar gerçekleşir. Dördüncü tip olan Sannipatika, üç doshanın birden bozulmasıyla oluşur. Ayurveda sistemine göre bu tip tedavi edilemez ve yaşlı insanlarda meydana gelmektedir [6].

Antik dönemde, epilepsi tedavisinde insan kanının kullanıldığına dair birçok farklı kaynaktan bilgiler vardır. Bu tedavi yöntemine dair ilk bilgilere ise Romalı ansiklopedist Alus Cornelius Celsus tarafından M.S. 40 yıllarında yazılmış olan De Medicina (Tıp Üzerine) kitabında yer verilmektedir. Adı geçen kitabında “Bazıları bir gladyatörün kesik boğazından gelen kanın içilmesiyle kendilerini biraz olsun epilepsi hastalığından özgürleştirirler” cümlesiyle bu yöntemin tedavi amacıyla uygulandığı bildirilmiştir [7]. “Doğal Tarih” adlı eserin yazarı Plinius ise eserinde şu paragrafa yer vermiştir : “Gladyatörlerin kanı da bir hayat kaynağı olarak epilepsi hastaları tarafından içildi. Hastalar insan kanı emmenin tedavide en etkili biçim olduğunu düşünüyorlar.”

Bu uygulamanın nedeni ise epilepsi gibi zor tedavi edilebilen bir hastalığa karşı, güçlü insanlar olan gladyatörlerin kanının hastalığa şifa olabileceğinin düşünülmesidir [7]. Hristiyan inancına göre epilepsi, şeytan ve diğer saf olmayan ruhlar tarafından tetiklenebilen bir hastalıktır ve azizlerin koruyucu etkisiyle önlenebilmektedir [8]. Bu düşünceden yola çıkarak, Azizlerin resimlerinin gösterilmesinin tedavi edici bir yöntem olduğuna inanılmaktaydı. Epilepsi tedavisinde bu amaçla yararlanılan 37 azizin varlığı bilinmektedir. Diğer bir tedavi yöntemi olarak, epilepsi hastaları şeytan çıkarma ayinlerine tabi tutuluyordu [9].

İslamiyet'te ise durum Hristiyanlık'dan farklıdır. Müslümanlar arasında, epilepsi hakkında yazdıkları hem İslam dünyasında hem de 1700'lere kadar Avrupa'da önem gören iki hekim vardır: Ebû Bekr Muhammed bin Zekeriyâ er-Râzî (865 - 925) ve İbn-i Sina (980 - 1037). İbn-i Sina, epilepsinin tanımlanmasında ve tedavisinde bilimsel ve akılcı olmasıyla günümüze çok önemli detaylar bırakmıştır. Batıda "Avicenna" adıyla tanınan İbn-i Sina tıp tarihinde "Epilepsi" terimini kullanan ilk hekimdir [10]. Epilepsinin değişik formlarını ve semptomlarını tarif etmiş ve tedavi etmek için uygun farmakolojik ürünlerin uzun bir listesini en ünlü tıbbi eseri olan El-Kanun fi't-Tıb kitabında yer vermiştir. Bu eser dört yüz yıl boyunca İslam ve Avrupa üniversitelerinde standart bir tıp ders kitabı olarak eğitime katkıda bulunmuştur [11]. İbn-i Sina nöbetlerin gerçek kökeninin beynin alt ventrikülü olabileceğini söylemiştir. Çünkü ataklar duyma, görme ve yüz kaslarını da etkilemektedir. Ona göre daha ciddi olan bir epilepsi türü ise melankoli ile ilişkili olan epilepsidir ve İbn-i Sina bu alt tipin obsesyona neden olabileceğini bildirmiştir. Yüksek seslerden ve yoğun parlak ışıklardan korunulması gerektiğini, tüketici fiziksel egzersizlerden kaçınılması ve uykusuz kalınmaması gerektiğini belirtmiştir. Ayrıca epilepsiyi tetiklediği için tahıldan yapılan gıdalardan uzak durulmasını söylemiş ve tedavi yaklaşım olarak çeşitli tıbbi bitkilerin tüketilmesini önermiştir [11].

Antik Yunan'da epilepsi hakkındaki en önemli kanıtlar ünlü hekim Hipokrat (M.Ö. 5. yy) tarafından yazılmış olan Hipokratik Korpus'un "Kutsal Hastalık Üzerine" bölümünde yer almaktadır. Bu bölümde genellikle hastalığı doğru bir şekilde değerlendiremeyen ve hastalığın kutsal olduğunu düşünen dönemin hekimlerini eleştirmiştir. O döneme kadar kutsal hastalık olarak bilinen epilepsinin, Hipokrat'a göre herhangi bir kutsiyeti bulunmamaktadır [12].

Beyinle ilişkilendirilen bu hastalığı, doğaüstü olaylarla bağdaştıranlara kitabında şu şekilde yer vermiştir: “Kendisine güvenli yer edinmek isteyen insan her türlü hastalık için belirli bir tanrıyı suçlayacak ve mizansenleri hayal edecektir. Eğer hasta, keçi gibi davranırsa bundan Tanrıların Anası sorumludur. Eğer çok yüksek sesli bir çığlık atarsa, yani bu kişinin at gibi kişnediği söylenir ve bundan dolayı Poseidon suçlanır. Eğer kişinin ağzında köpük varsa suçlu Ares’tir. Eğer kişi gece nöbetleri geçiriyor ve panik halinde kapıya doğru koşuyorsa bu durumda Hekate’nin saldırısından ve kahramanların hücumundan bahsedebiliriz.” Hipokrat, epilepsinin ortaya çıkış sebebinin tanrısal bir kökenden kaynaklandığına inanan hekimleri eleştirmiştir çünkü o, hastalığın kuşaktan kuşağa aktarıldığını düşünmüştür [12].

Hipokratın yanı sıra Galen de (M.S. 2. yy) eserlerinde epilepsiden bahsetmektedir. Galen’e göre bütün epilepsi nöbetleri beyin hastalıklarıyla ilişkiliydi. İdiyopatik (beyin kökenli) ve Sempatetik (beynin dolaylı olarak etkilendiği) olarak epilepsiyi ikiye ayırmıştır. İdiyopatik epilepsinin nedenini beyinde biriken vücut sıvısı ile ilişkilendirmiştir. Sempatetik epilepsi için iki olası sebep öne sürmüştür. Birincisi, kardiyaya’nın etkileneşidir. İkinci sebepte ise doku hasarı beyin dışında herhangi bir yerdedir ve bu nedenle olan bir atak durumunda, hasta birey bir aura hissetmektedir [12]. Aura kelimesi Yunanca’da esinti anlamına gelir ve bu terimi ilk kez Galen 13 yaşındaki bir epilepsi hastası için kullanmıştır. Galen, esinti anlamına gelen aura hissini “pnömatik” bir madde olarak düşünmüştür ve bunun vücutta yayıldığına, ve bu sayede beyne ulaştığına inanmıştır [12]. Galen, epilepsi konusunu rasyonel temellere oturtması bağlamında, oldukça önemli bir düşünür ve hekimdir.

Bizans dönemi incelendiğinde M.S. 4. yy’dan 15. yy’ ye kadar birçok hekim konuyla ilgili farklı görüşler bildirmiştir. Bunların arasında değinilmesi gereken en önemli hekimlerden biri Bergamalı Oribasius’tur. Ona göre epilepsi, beyin çevresinde toplanan phlegm (balgam) ve sinirlerin sıkışması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. M.S. 9. yy’nin ünlü hekimlerinden Leo *the Latrosophist* epilepsiyi tıpkı İbn-i Sina gibi beyin ventrikülleri ile ilişkilendirmiş ve bu durumun çocuklarda daha sık görüldüğünü belirtmiştir. Fakat İbn-i Sina’dan farklı olarak, epilepsinin kesin bir tedavisinin olmadığını düşünmüş ve palyatif tedavi için sadece diyet tavsiye etmiştir [13].

2.1.2 Tanım

Epilepsi; dünya çapında 70 milyondan fazla insanı etkileyen, tekrarlayan kronik nöbetlerle karakterize heterojen bir beyin hastalığıdır. Nöbetler genellikle beyin elektriksel işleyişindeki ani, düzensiz ve yoğun elektrik deşarjı sonucunda ortaya çıkmaktadır [14]. Hastalığın tanısında nörolojik muayene, nörogörüntüleme ve EEG analizlerinden yararlanılmaktadır. Oldukça heterojen seyirli ve kronik bir hastalık olmasından ötürü bahsedilen analizlerle tanı konulamayan hastalarda yeni nesil dizileme (YND) yöntemleri de dahil olmak üzere farklı moleküler tanı yöntemlerine başvurulur. Teşhis konulan hastalarda genellikle tedaviye ilk olarak anti epileptik ilaç (AEİ) monoterapisi ile başlanır. AEİ'ler beyindeki kimyasalların seviyelerini değiştirerek nöbetlerin kontrol edilebilir duruma gelmesini sağlar. AEİ'ler ile nöbetlerin kontrol altına alınamadığı durumlarda ise uygun vakalarda cerrahi tedavi, vagus sinir stimülasyonu (VNS) veya ketojenik diyet uygulanır.

2.1.3 Epidemiyoloji

Epidemiyolojik çalışmaların bildirdiğine göre epilepsilerde bireylerin yaşadığı ülkeler ve sosyal sınıflara göre farklı prevalans ve insidans değerleri mevcuttur. Örneğin Fiest ve ark. epilepsinin genel yaşam boyu prevalansının 7,6/1000 olduğunu, orta gelirli ülkelerde 8,7/1000 ve yüksek gelirli ülkelerde 5,1/1000 olduğunu bildirmiştir [15]. Epilepsi insidansı yüksek gelirli ülkelerde 39-61,1/100.000, orta gelirli ülkelerde ise 69,4-278,2/100.000 oranındadır [16]. Türkiye'de epilepsi için yapılan epidemiyolojik analizler sınırlı sayıdadır. Ancak Türkiye'nin farklı kentsel ve kırsal bölgelerinde yapılan çalışmalar, genel yaşam boyu prevalans oranını 6-12,2/1000 olarak tespit etmiştir [17].

2.1.4 Mekanizma / Patofizyoloji

Epileptogenez; beyin hasarlanmasının ardından moleküler ve hücrel değişikliklerin oluştuğu, buna bağlı olarak spontane nöbetlerin ortaya çıktığı bir durumdur [18]. Epileptogenez ilerleyici bir süreçtir, başlangıç hasarını takiben sessiz (latent) bir dönem oluşur ve bu dönemden sonra spontane nöbetler ortaya çıkar. Yeni terminolojide epileptogenez, sadece epileptik uyarım ile ilk nöbet arasındaki latent dönemi değil, dönem ile birlikte hastalık teşhisinden sonra devam eden mekanizmaları da içerir [19].

Epileptogenizin altında yatan patofizyolojik mekanizmayı çözümlenebilmek için çoğu çalışmada insan epilepsisini veya insan beyin örneklerini ve EEG'yi taklit eden hayvan modelleri kullanılmaktadır. Araştırmalarda, aktif bir epileptik nöbetle sonuçlanan patofizyolojik olayların neden olduğu değişikliklere odaklanılır. Bu değişimler beyin hasarlarını veya genetik değişiklikleri içerebilir. Beyin fonksiyonları, nöronlar üzerindeki hem eksitasyon (E) hem de inhibisyon (I) özelliği gösteren nörotransmitterlerden ulaşan sinyallerin koordinasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. Nöbetler E/I arasındaki dengenin bozulması durumunda ortaya çıkabilmektedir [20]. Bahsedilen durum birçok beyin fonksiyon seviyesindeki değişiklikten kaynaklanabilir. Bu değişiklikler genetik veya edinsel olabilir. Nöral devre (örneğin, anormal sinaptik bağlantı) ve reseptörlerde (örneğin, anormal gama-aminobütirik asit [GABA] reseptör alt birimleri) meydana gelen bozukluklar veya anormal iyonik kanal fonksiyonu epilepsiye yol açan genetik patolojiler arasında yer almaktadır. Gelişmekte olan bir beyin, çeşitli fizyolojik sebeplerden dolayı özellikle epileptik nöbetlere eğilimlidir. Ayrıca normal gelişen beyinde eksitator sinaptik işlev, inhibitör sinaptik işlevden daha önce gelişir böylece artmış uyarılma ile nöbet oluşumunu destekler [19].

2.1.5 Etiyoloji

Epilepsi ile ilgili altı etiyolojik kategori bilinmektedir. Bunlar sırasıyla; yapısal, genetik, bulaşıcı, metabolik, immün ve bilinmeyen olarak tanımlanmaktadır [21].

Nörogörüntüleme ile beyinde yapısal bir anormallik tespit edildiğinde, bu anormalliklerin nöbetlerin olası sebebi olup olmadığını belirlemek amacıyla EEG analizi yapılır. Veriler, tespit edilen anormalliğin lokalizasyonu ile uyuyorsa yapısal bir etiyolojiden bahsedilir.

Genetik olan etiyolojiler, genellikle nöbetlere sebep olduğu bilinen veya düşünülen spesifik bir veya daha fazla gen varyantından kaynaklanmaktadır. Genetik etiyoloji sebebiyle ortaya çıkan epilepsiler oldukça heterojendir ve insidansları her yıl artmaktadır. Ancak çoğunda moleküler etiyopatogenez belirlenmemektedir. Buna rağmen klinik görünüm, EEG verileri ve aile öyküsü birlikte değerlendirildiğinde genetik bir etiyoloji olduğu belirlenen bu epilepsi tipinin kalıtsal bir örüntü sergilediği gösterilmiştir. Kalıtsallığa ilişkin kanıtlar, Lennox'un 1950'de yaptığı ikiz ve ailevi kümelenme çalışmalarından gelmektedir [21].

Bulaşıcı etiyolojiler, dünya çapında en sık görülen etiyolojidir. Enfeksiyöz etiyoloji nöbetlerin, bozukluğun temel semptomu olduğu bilinen bir enfeksiyondan kaynaklandığını ifade etmektedir. Örnek olarak bazı durumlarda bulaşıcı olduğu bilinen menenjit gibi bir hastalığa ikincil olarak gelişen epileptik nöbet bu gruptadır [22].

Metabolik etiyolojiye sahip epilepsi türlerinde nöbetler, altta yatan bir metabolik bozukluğa bağlı olarak ikincil gelişen nöbetlerle karakterizedir. Birçok metabolik epilepsinin tanımlanmış gen varyantlarının olması nedeniyle metabolik etiyoloji, genetik etiyoloji ile aynı zamanda ortaya çıkabilmektedir. Epilepsi hastalığının metabolik nedenlerinin tespit edilmesi, spesifik tedavilere yönelik çalışmalar açısından önemlidir [21].

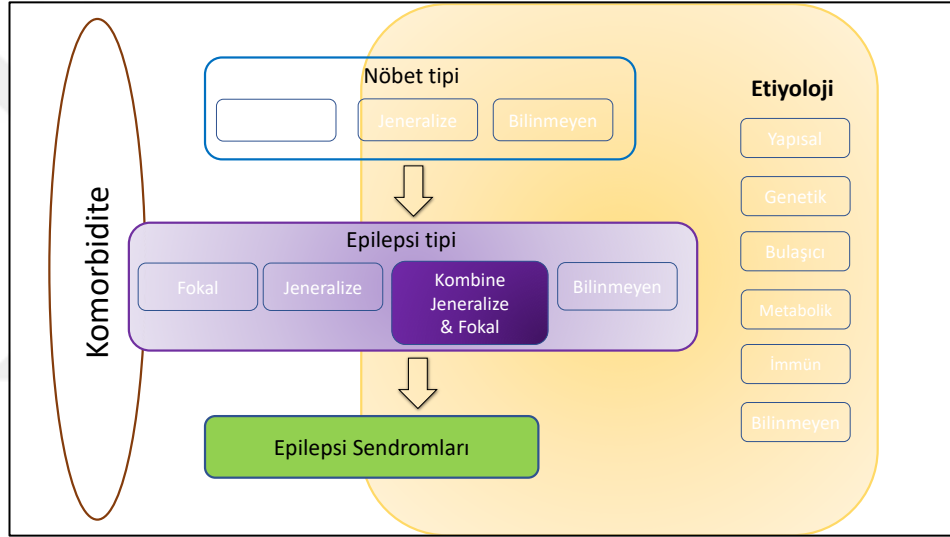
İmmün etiyolojisi ise, epilepsi hastalığına neden olan potansiyel bir etken olarak günümüzde giderek daha fazla kabul edilmektedir. Son zamanlarda hem yetişkinlerde hem de çocuklarda karakteristik bir dizi immün epilepsi tanımlanmıştır [22]. Bu grubun tanımlanması oldukça önemlidir çünkü bağışıklık etiyolojisi tanımlanmış hastalarda tedavi olarak immünoterapi uygulamaları olanaklıdır.

Son etiyolojik kategori ise “nedeni bilinmeyen” ve bu sebeple kısaca “bilinmeyen” olarak adlandırılan gruptur. Bu gruptaki hastalara spesifik bir tanı koymak mümkün olmamaktadır. Bu kategorinin teşhisinin zamanında doğru yapılamamasının arkasında, nörogörüntülemeye yetersiz erişim, antikor testi veya genetik test sonuçlarının doğru yorumlanamaması gibi nedenler bulunmaktadır.

2.1.6 Sınıflandırma

Epilepsinin tanımı ve sınıflandırılması birçok kez değiştirilmiş ve düzenli olarak gelişmiştir. İlk sınıflandırmalar çok eski devirlere kadar uzanmaktadır. Epileptik nöbetler ve hastalığın tanımının Paleolitik döneme kadar uzandığı bilinmektedir. Ancak bu dönemlerde ve sonrasında uzun yüzyıllar boyunca yapılan çeşitli sınıflandırma ve tanımlama girişimlerinin büyük bir karmaşa içerisinde olmasından dolayı standardize edilmiş bir sisteme ihtiyaç olduğu ortaya çıkmıştır. İlk olarak 1964 yılında Gastaut liderliğindeki Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE), nöbetler için bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir [23]. Başlarda bu sınıflandırma genel kabul görmemiş ancak 1970'li yıllardan sonra uluslararası geçerlilik kazanıp, yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Sonraki güncelleme ve sınıflandırma 1981 yılında, epilepsilerin ve epileptik sendromların sınıflandırılması ise 1989 yılında yine ILAE tarafından yapılmıştır [24]. 2005'te yapılan yeni epilepsi nöbet tanımı şu şekildedir: "Beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktiviteye bağlı olarak belirtilerin veya semptomların geçici olarak ortaya çıkmasıdır." Aynı zamanda 2014 yılında ILAE, epilepsinin etkisini ve önemini belirtmek için epilepsiyi hastalık olarak yeniden tanımlamıştır. Güncel epilepsi sınıflandırılması ise, epilepsiyi farklı klinik özelliklere göre sınıflandırmak için tasarlanmış olup bu bağlamda bir çerçeve kullanılarak yapılmıştır. 2017 yılında yapılan sınıflandırma dört kategoriye ayrılmaktadır. Bunlar nöbet tipi, epilepsi tipi, epilepsi sendromu ve etiyolojidir (Şekil 2.1) [21].



Şekil 2.1: Epilepsilerin sınıflandırılması [21].

2.1.7 Genetik jeneralize epilepsi (GJE)

GJE, beynin tümünün tutulumu ile seyreden ve genetik bir etiyolojiye sahip olan epilepsi alt tipidir. Tüm epilepsilerin yaklaşık dörtte birini oluşturmaktadır. GJE'ler, tek gen bozuklukları, CNV ve yaygın varyantlar gibi farklı genetik varyant türleri ile ilişkilendirilmektedir [25]. Hastalığın genel bir klinik tablosu olmamakla birlikte kendisini farklı bireylerde farklı nöbet türleri ile göstermektedir. Tipik absans, miyoklonik ve jeneralize tonik-klonik nöbetler GJE hastalarında görülen ana nöbet tipleridir [1].

Nöbet başlangıç yaşı, nöbet türü ve EEG bulgularındaki farklılıklardan dolayı, ILAE sınıflandırılmasında GJE'ler Çocukluk Çağı Absans Epilepsi (ÇAE), Juvenil Absans Epilepsi (JAE), Juvenil Miyoklonik Epilepsi (JME) ve Tek Başına Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetli Epilepsi olmak üzere dört epileptik sendrom olarak belirtilmişlerdir. Hastalık, çocukluk ya da ergenlik döneminde ortaya çıkmaktadır. Nadiren de olsa nöbet başlangıcı 40 yaş kadar geç olabilir. GJE nöbetleri genellikle AEİ'lere yanıt verir. Fakat burada önemli olan doğru tanı ve uygun ilacın kullanımınıdır. Örneğin etken maddesi valproat olan AEİ'ler jeneralize tonik-klonik nöbetleri kontrol altına alabilirken, karbamazepin ve okskarbazepin gibi sodyum kanal blokerleri miyoklonik nöbetleri şiddetlendirebilmektedir. Ayrıca yanlış ilaçların kullanımı tedaviyi geciktireceği gibi hastada status epileptikus da (SE) tetikleyebilmektedir [26].

2.1.8 Epilepsi genetiği

Epilepsinin genetik altyapısı olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada bildirildiğine göre; hastalığın temelinde kromozomal bozukluklar, tek gen defektleri ve kompleks kalıtım gibi farklı genetik kalıtım paternleri yatmaktadır. Genetik altyapıyı destekleyecek en önemli kaynak aile ve özellikle ikizler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen verilerdir [27–30]. İkiz çalışmaları, epilepsi heritabilitesinin (kalıtılabilirlik) %25-70 aralığında olduğunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmalarda monozigot (MZ) ikizlerde, dizigot (DZ) ikizlere kıyasla epilepsinin görülmesininin anlamlı seviyede daha fazla olduğu bulunmuştur [31]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kalıtılabilirliğin tüm epilepsiler için %32, fokal epilepsiler için %23 ve fokal olmayan epilepsiler için %36 olduğu bildirilmiştir [32]. Bu sonuçlar epilepsilerin kalıtsallığının gösterilmesi açısından anlamlıdır.

Özellikle epilepsinin alt tipi olan ve çalışmamızda araştırdığımız GJE, genetik katkının gösterilebildiği bir epilepsi alt tipidir. Bunun en açık örneği olarak; MZ ikizlerde GJE'nin %70-80 konkordans göstermesidir. [27]. Günümüzde GJE'lerin yaklaşık %2'sinin Mendel tipi kalıtım sergilediği bilinmektedir [33]. Hastalığın büyük bir kısmı ise kompleks kalıtım paterni sergilemektedir ve bu yönüyle birden fazla genin hem çevresel hem de epigenetik faktörlerle etkileşime girmesiyle ortaya çıkmaktadır [34]. Epilepsiye neden olan genlerin belirlenmesinin tarihi 1995 yılında Otozomal Dominant Noktürnal Frontal Lob Epilepsisinde (ADNFLE) aday gen olarak *CHRNA4*'ün tespit edilmesine dayanmaktadır.

Daha sonrasında Mendelyen kalıtıma uygunluk gösteren 10 farklı monogenik GJE geni daha tanımlanmıştır. Bu genlerin çoğunluğu nöron membranlarındaki iyon kanallarının alt ünitelerini kodladığından dolayı idiyopatik Mendelyen epilepsiler "Kanalopatiler" olarak da adlandırılmaktadır [35]. Bununla birlikte 2002 yılında yapılan bir çalışmada iyon kanal geni olmayan *LGII*'de meydana gelen varyantların da hastalığın etiolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir [36, 37]. Bu sonuç epilepsi genetiğinde farklı kalıtım modellerinin görülebileceğini ve yeni patofizyolojik mekanizmaların etken olabileceğini düşündürmektedir. Ardından uzun bir süre aday gen tespiti ve genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında negatif veya anlamsız sonuçlar alınmıştır. Fakat son on yıl içerisinde YND'nin, aday gen çalışmalarında kullanılmasıyla epilepsilerin genetik altyapısının belirlenmesine yönelik çalışmalar artan bir ivme kazanmıştır.

Epilepsinin moleküler etiopatogeneze neden olan genlerin ve bu genlerin bulunduğu lokusların tanımlanmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bunların arasında genomdaki tüm ekzomlara bir seferde bakılmasına imkan veren ve WES olarak adlandırılan, ekzom tabanlı genetik tarama çalışmaları yirmiden fazla genin sadece GJE'lerle ilişkili olduğunu bulmuştur. 2018 yılında Kompleks Epilepsiler üzerine ILAE Konsorsiyumu, genom çapında bir mega analiz gerçekleştirmiş olup GJE'lerle bağlantılı 11 yeni lokus bildirmiştir [38]. 2019 yılı itibarıyla *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) veritabanında 140'tan fazla epilepsi ile ilişkili lokus veya gen listelenmiştir [39].

2.2 MikroRNA (miRNA)

2.2.1 Tanım ve tarihçe

miRNA'lar gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan yaklaşık 21-23 nükleotid uzunluğundaki kodlamayan bir RNA sınıfıdır. Evrimsel olarak korunmuş bu moleküller, bilinen en eski gen regülasyon mekanizmalarından biridir [40]. miRNA'lar haberci RNA'daki (mRNA) tamamlayıcı hedef dizilere bağlanarak ve translasyon sürecini inhibe ederek protein ürününün üretimini önler veya değiştirirler [41]. Önceki yıllarda junk (çöp) RNA olarak adlandırılan ve göz ardı edilen bu RNA sınıfı, son yıllarda insan genlerinin yaklaşık 2/3'sini kontrol ettiği tahmin edilen ve birçok fizyolojik ve gelişimsel süreçte rol alan moleküller olarak kabul edilmektedir [42].

Gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik bir role sahip olan miRNA'lar ilk olarak 1993 yılında Lee ve ark. tarafından nematod *Caenorhabditis elegans*'ta (*C. elegans*) keşfedilmiştir [43]. Bu organizmalarda lin-4 adı verilen bir gen, çeşitli post embriyonik gelişim olaylarının kontrolü için gereklidir. Ayrıca bu genin transkripsiyonu LIN-14 proteininin *down* regülasyonuna neden olmaktadır. LIN-14 proteininin negatif olarak düzenlenmesinin, *C. elegans*'ta birincil larva aşamasından (L1) ikincil larva aşamasına (L2) geçiş için gerekli olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar 4 farklı *C. elegans* türünden lin-4 lokusunu izole etmişler ve bazı karşılaştırmalar yaparak lin-4 geninin transkripsiyon sonrası aktif bir protein ürününe çevrilmediğini bunun yerine yaklaşık 21 ve 61 nükleotit uzunluğunda iki küçük RNA'nın oluşumuna sebep olduğunu bulmuşlardır. Daha sonra bu araştırmacılar, [43] Wightman ve meslektaşları [44] ile birlikte, 21 nükleotit uzunluğunda olan RNA'nın lin-14 mRNA'nın 3'UTR bölgesindeki birden fazla bölge için antisens tamamlayıcılığa sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu tamamlayıcı bölgeler arasında meydana gelen bağlanmalar, LIN-14 protein ekspresyonunu, mRNA seviyelerinde kritik bir değişikliğe neden olmadan azaltmıştır. Yapılan bu iki çalışmanın sonuçları, küçük lin-4 RNA'ları, lin-14 mRNA'nın 3' UTR bölgesinde baz eşleşmesi yaparak, lin-14'ün translasyonunun baskılanmasına ve bunu takiben *C. elegans* gelişimi sırasında L1 fazından L2 fazına ilerlemesine neden olan bir model ortaya koymaktadır [40].

2000 yılında iki ayrı çalışma grubu küçük bir RNA olan let-7'nin *C. elegans*'ta daha sonraki bir larva aşamasının yetişkinliğe dönüşmesi için gerekli olduğunu keşfetmiştir [45, 46]. Bu olgular sonucunda araştırmacılar gen ekspresyonunu düzenleyen bu yeni küçük RNA moleküllerinin sadece *C. elegans*'a özel bir fenomen olduğunu düşünmüşlerdir. Ancak let-7 geninin homologları daha sonrasında insanlar da dahil olmak üzere farklı birçok organizmada keşfedilmiştir [45]. Bu dönemi takiben, farklı araştırmacılar insanlardan, solucanlardan ve sineklerden çok sayıda küçük RNA'yı klonladıklarını açıklamışlardır. Bu küçük RNA'lar kodlama yapmıyordu ve yaklaşık 19-24 nükleotid uzunluğundalardı [40]. Ek olarak birçoğunun türler arasında evrimsel olarak korunduğu ve hücre tipine özgüllük sergilediği bulunmuştur.

Günümüzde mikroRNA'lar olarak adlandırılan bu küçük RNA'ların varlığının tanımlanması ve doğrulanması, bu sınıfa ait olan diğer üyeleri tanımlamayı amaçlayan çeşitli çalışmalara yol açmış ve bu çalışmalar farklı hayvan ve bitki türlerinde birden fazla miRNA'nın keşfedilmesine neden olmuştur.

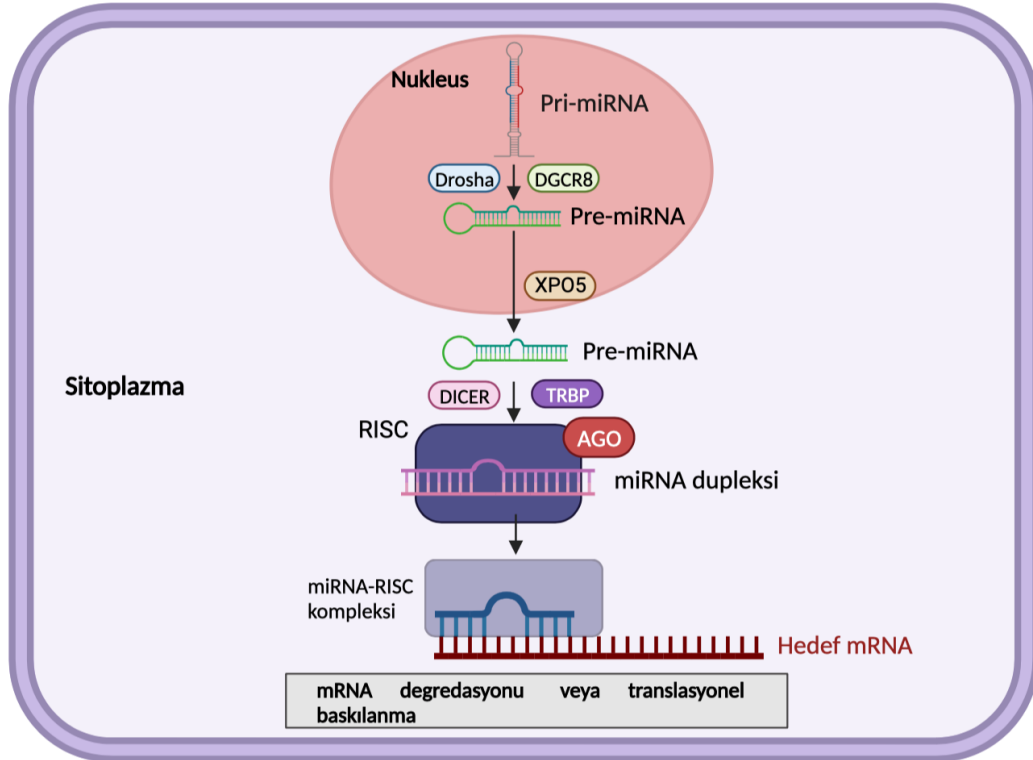
2002 yılında kurulan miRBase adlı bir miRNA veri tabanı, miRNA sekansları, açıklamaları ve isimlendirme gibi bilgileri için çevrimiçi arşiv görevi görmektedir [47]. Bunun yanında miRNA'ların biyolojik hedeflerini, fonksiyonel bağlanma bölgelerini tahmin eden TargetScan [48], miRDB [49] ve MiRWalk [50] veri tabanları da mevcuttur. Bahsedilen veri tabanlarında isimlendirilen miRNA'ların tümünün biyolojik süreçlerdeki işlevleri net olarak bilinmemektedir. Bu nedenle miRNA'lara dair daha fazla çalışmaya ve belirlenen miRNA'ların ıslak laboratuvar süreçleri ile doğrulanmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.2 MikroRNA biyogenezi

miRNA biyogenezi, ribonükleaz (RNAaz) III enzimleri olan Drosha ve Dicer tarafından hem nükleusta hem de sitoplazmada gerçekleştirilen iki aşamalı bir süreçtir [51].

Süreç ilk olarak nükleusta birincil miRNA'nın (pri-miRNA) polimeraz II (Pol II) tarafından transkribe olması ile başlar ve hairpin yapısında olgun miRNA dizisini içeren uzun pri-miRNA'nın oluşumu ile devam eder. Oluşan yapı, Drosha ve kofaktörü DiGeorge sendromu kritik bölgesi 8 (DGCR8) tarafından kesilir ve 60-70 nükleotid uzunluğunda öncül miRNA'nın (pre-miRNA) oluşmasına neden olur. Pre-miRNA, Exportin-5 (XPO5) enzimi tarafından sitoplazmaya taşınır ve Dicer tarafından yaklaşık 20-22 baz çifti uzunluğunda miRNA dupleksi oluşturulur. Daha sonra tek ipliği Argonaute (AGO) proteini tarafından tanınır ve ATP aracılığıyla RNA kaynaklı susturma kompleksine (RISC) dahil edilir böylece miRNA-RISC kompleksi oluşur. Dupleksin bir ipliği, endonükleaz olan AGO tarafından parçalanır, geri kalan iplik (olgun miRNA) hedef mRNA ile tam eşleşme yaparak mRNA'yı keser ya da kısmi baz eşleşmesi yaparak translasyonel baskılanmaya neden olur (Şekil 2.2) [52].

miRNA biyogenezinde meydana gelebilecek herhangi bir bozukluk anormal beyin gelişimine yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, bu yolda yaşamsal bir öneme sahip olan Dicer enzim eksikliğini merkezi sinir sisteminde (MSS) yavaş ve ilerleyici nörodejenerasyonla ilişkilendirilmiştir. Örneğin bahsedilen enzimin, Purkinje nöronlarında veya doğum sonrası astroglia’da kaybının olması, serebellar ataksiye ve serebellar dejenerasyona neden olmaktadır [53]. Hipokampal skleroz (HS) ile ilişkili Temporal Lob Epilepsisi (TLE) olan hastalarla yürütülen bir başka çalışmada, hastalardan alınan hipokampus dokusunda Dicer enzim seviyelerinde azalma, AGO protein düzeylerinde ise artış bulunmuştur [54]. Tüm bu veriler, miRNA biyogenez yolağının bileşenlerindeki değişikliklerin, doğrudan epileptogeneze katkıda bulunabileceğini ve biyogenez bozukluğu ile MSS gelişimi ve homeostazı arasında kritik bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 2.2: miRNA biyogenez yolağı.

2.2.3 Biyobelirteç olarak mikroRNA'lar

Biyobelirteçler; girişimsel olmayan bir şekilde ölçülebilen ve hastalığa özgü, klinik kullanımda yer bulan, yararlı ve uygun biyolojik parametrelere verilen genel isimdir. Biyobelirteçler çok sayıda vücut sıvısından elde edilebilir. Örneğin; periferik kan, serum, anne sütü, idrar vb. Genel olarak biyokimyasal biyobelirteçler bilinmekle birlikte, CA19-9, CEA125 gibi özellikle son yıllarda klinik uygulama imkanı bulan genetik biyobelirteçler de mevcuttur. Bunlar arasında ise miRNA'lar özellikle önemlidir. Tezimiz kapsamında da incelediğimiz miRNA'lar hem tanı hem de takip süreçlerinde aktif olarak güncel kullanım imkanı bulan biyobelirteçlerdir. miRNA'lar yukarıda da bahsedildiği haliyle birçok biyolojik materyalden elde edilebilmektedir. Bu bağlamda; şimdiye kadar yapılan çalışmalar, dolaşımdaki miRNA'ların yaklaşık %10'unun eksozomlarda salgılandığını, geri kalan %90'ının ise Argonaute-2 (AGO-2), Nükleofosmin-1 (NPM 1) ve lipoprotein (HDL) gibi proteinlerle kompleksler oluşturarak taşındığını belirlemiştir. miRNA'nın bu şekilde taşınmasının organizma açısından özellikle önemli bir avantajı vardır, bu durum; vücut sıvılarında var olduğu bilinen RNAazlar tarafından sindirilmesini engellemek için gerekli olduğu şeklinde bildirilmiştir [55].

MiRNA'ların uygulamasına dair literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur. Bunlara bir örnek olarak; miRNA'lara dair literatürde yayımlanan ilk çalışma 2008 yılında Lawrie ve ark. tarafından yapılmış ve Diffüz B-Hücreli Lenfoma hastalığının incelenmesi için kullanılmıştır [56]. Çok sayıda biyolojik materyalden elde edilebilen miRNA'lar, birçok farklı hastalıkta farklı amaçlar kapsamında kullanılabilir. miRNA'ların ilkin çalışma alanı sadece kanser [57] ile sınırlıyken günümüzde epilepsi [3], nörodejeneratif rahatsızlıklar [58, 59] ve kardiyovasküler hastalıklarda da [60, 61] biyobelirteç olarak potansiyel kullanımlarına dair yürütülen çok sayıda araştırma bulunmaktadır.

MiRNA'lar doku ve/veya hücre tipi için yüksek özgüllüğe sahiptirler. Yukarıda bahsedilenler bir arada değerlendirildiğinde, sonuç olarak miRNA'ların görece kolay erişilebilir olması, özgüllüğü, stabilitesi, normal fizyolojik koşullardaki ve hastalığıdaki patolojik süreçlerdeki rolleri onları ideal bir genetik biyobelirteç yapmaktadır [52, 54].

2.2.4 MikroRNA'lar ve epilepsi

MiRNA'lar hemen hemen bütün dokularda eksprese edilir ve hücrel farklılaşma, proliferasyon, apoptoz gibi süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. Şimdiye kadar tanımlanmış olan miRNA'ların yaklaşık %50'si memeli beyinde eksprese edilmektedir [62]. Normal beyin işlevi, nörotransmitter maddeleri kodlayan transkriptler dahil olmak üzere zengin bir gen çeşitliliğinin ekspresyonuna bağlıdır. Dolayısıyla gen ekspresyonunun bozulmasının sonucu olarak epilepsi de dahil olmak üzere birçok merkezi sinir sistemi hastalığı ortaya çıkabilmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan miRNA'ların düzensizliğinin, epileptogenez sürecinin altında yatan ana mekanizma olduğu bildirilmiştir [41, 62].

Epilepsi patogenezinde apoptozu, nöroinflamasyonu, otofajiyi ve sinaptik yapıyı kontrol eden genlerin ve bu genlere etkiyen miRNA'ların ifadesindeki değişikliklerin yer aldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda miR-132'nin nöroinflamasyon ve apoptoz süreçlerini kontrol ettiği gösterilmiştir [62, 63]. Karmaşık bir patofizyolojiye sahip bu hastalıkta AEİ'lerin kullanımı hem düzenli kullanıma bağlı farklı yan etkilere neden olmaktadır hem de sınırlı düzeyde yarar sağlamaktadır. Ayrıca birincil tedavi amaçlı kullanılan ilaçların, araştırmada veya klinik pratikte nöbetleri baskılama patofizyolojisini modüle ettiğini gösteren kesin bir kanıt yoktur [64]. Günümüzde GJE teşhisinde ve takibinde kullanılan spesifik bir biyobelirteç bulunmamaktadır. GABA reseptör geni, sodyum kanalı voltaj kapılı tip I-alfa (*SCN1A*) geni ve 5-hidroksi triptamin (5-HT) reseptör geni gibi genetik biyobelirteçlerin epilepsi teşhisine yardımcı olabileceği düşünülse de yapılan bazı çalışmalarda sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edilememesinden dolayı bahsedilen biyobelirteçlerin uygulanması sınırlı kalmaktadır [65, 66].

Son zamanlarda odaklanılan miRNA'ların, epileptogenez sürecinin aydınlatılmasında, hastalığın tanısında ve takibinde etkili olabileceğini gösteren bir dizi çalışma mevcuttur [66–68]. miRNA'lar çeşitli genleri etkileyebilir ve miRNA ekspresyon seviyesindeki değişiklikler epilepsi patogenezindeki hücrel süreçlerin anlaşılmasına katkıda bulunabilmektedir. 2017 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, miR-134'ün Mezial TLE (MTLE) tanılı hastaların plazmasında önemli ölçüde *down* regüle edildiğini bulmuşlardır [69].

Öte yandan HS ilişkili MTLE sahip hastalarla yürütülen bir başka araştırmada, hastaların kanında miR-145, miR-199a ve miR-181c'nin aşırı eksprese olduğu bildirilmiştir [70]. Martins-Ferreira ve ark. tarafından yapılan çalışma ise miR-132, miR-146a ve miR-155'in plazmada ki seviyelerinin GJE hastaları ile sağlıklı kontroller arasında yüksek spesifite ve hassasiyetle ayırt edebileceğini öne sürmüştür [71]. Yukarıda örneklendirilen çalışmalar miRNA'ların epilepsi teşhisi için potansiyel genetik biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Çalışma kapsamında incelenen bireyler

Çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 17.01.2023 tarihli E.9290 sayılı izin kapsamında gerçekleştirildi. İmzalı gönüllü onam formu alınmış olup toplamda 21 GJE tanısı almış hasta ve 18 sağlıklı gönüllü incelendi. Çalışma kapsamında incelenen bireylerden bir kereye mahsus olmak üzere 5 cc EDTA'lı tüpe periferik kan alımı gerçekleştirilerek ardından +4°C buzdolabında muhafaza edilip devamında mümkün olan en kısa sürede uygun kitlerle total RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirildi. İzole edilen RNA örnekleri, örneklerin tümünün toplanmasına kadar geçen zaman zarfında, -80°C buzdolabında stoklandı.

3.1.2 Çalışmada kullanılan çözeltiler

Çalışma kapsamında kullanılan çözeltiler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Kullanılan çözeltiler.

Çözelti	Firma
Human miRNA primer seti (hsa-miR-194-5p, hsa-miR-106b ve hsa-miR-130a-3p)	AbmGood, Kanada
miRNA <i>Housekeeping Assay</i> (U6)	AbmGood, Kanada
BlaTaq™ 2X qPCR MasterMix	AbmGood, Kanada
Etanol	Merck, Almanya

3.1.3 Çalışmada kullanılan kitleler

Tez çalışması boyunca deneysel süreçlerde kullanılan kitleler Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Kullanılan kitleler ve tedarikçi firmalar.

Kit Adı	Kullanım Amacı	Firma
EcoPURE total RNA kiti	RNA izolasyonu	EcoTech Biotechnology, Türkiye
miRNA All-In-One cDNA sentez kiti	cDNA sentezi	AbmGood, Kanada
BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix	qRT-PCR	AbmGood, Kanada

3.1.4 Çalışmada kullanılan cihazlar ve gereçler

Çalışmada kapsamında kullanılan cihazlar ve gereçler Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3: Kullanılan cihazlar ve gereçler.

Cihaz / Gereç Adı	Firma
Masa üstü mini santrifüj	Labnet International, ABD
Soğutmalı santrifüj	Hettich, Almanya
Nanodrop Spektrofotometre	Thermo Scientific, ABD
PCR Cihazı	Bio-Rad, ABD

Tablo 3.4 (devam): Kullanılan cihazlar ve gereçler.

Isı Döngü Cihazı	Applied Biosystems 9700, ABD
96-well Plate	Nest, Çin
Vorteks	Stuart, İngiltere
Buzdolabı +4°C	Arçelik, Türkiye
Derin Dondurucu (-20°C, -80°C)	Arçelik, Türkiye
Otomatik Pipet Seti	Thermo Scientific, ABD Eppendorf, Almanya
Eppendorf tüpler (0,5-1,5-2,0 ml)	Corning, ABD
Pipet uçları	Noke, Çin

3.1.5 Çalışmada incelenen primerler

Çalışma kapsamında incelenen primerler (hsa-miR-106b, hsa-miR-130a-3p, hsa-miR-194-5p) Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

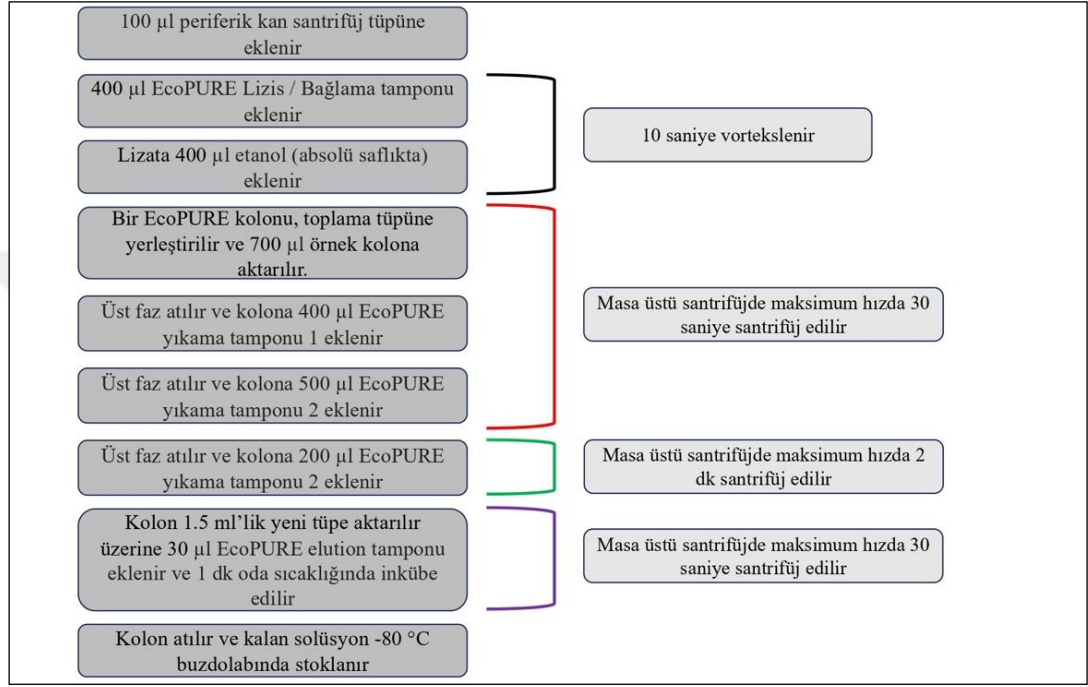
Tablo 3.5: Kullanılan primerlerin dizileri.

Primerler	Sekansı
miR-106b	5'-UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU-3'
miR-130a-3p	5'-CAGUGCAAUGUAAAAGGGCAU-3'
miR-194-5p	5'-UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA-3'

3.2 Yöntem

3.2.1 Periferik kandan total RNA eldesi

Periferik kandan RNA izolasyonu EcoPURE Total RNA kiti ile gerçekleştirildi. İzolasyon adımları Şekil 3.1'de gösterilmiştir. İzole edilen RNA'ların konsantrasyonu ve kalitesinin belirlenmesi spektrofotometre cihazı ile yapıldı.



Şekil 3.1: RNA izolasyonu basamakları.

3.2.2 Total RNA'dan komplementer DNA (cDNA) eldesi

Elde edilen total RNA'lardan cDNA dönüşümü, miRNA All-In-One cDNA sentez kiti ile gerçekleştirildi.

- I. Kit içeriğinde bulunan kimyasallar buz üzerinde çözülürerek tepkimeler deney süresi boyunca buz üzerinde devam ettirildi.
- II. Tepkimeler Tablo 3.5'e göre hazırlandı.

Tablo 3.6: cDNA dönüşümü yapılırken kullanılan reaktifler ve miktarları.

Materyal	Miktar
Total RNA	2 µg
2X miRNA cDNA Synthesis SuperMix	10 µl
Enzim Miksi	2 µl
Nükleaz içermeyen su	Toplam hacim 20 µl olacak şekilde eklenmiştir.

- III. Dikkatlice pipetaj yapılarak reaksiyon karıştırıldı ve kısaca santrifüjlendi.
- IV. Isı döngü cihazında sırasıyla 37 °C'de 30 dakika, 50 °C'de 15 dakika, 85°C'de 5 dakika inkübe edilerek tepkime sonlandırıldı. Ardından karışım buz üzerinde soğutuldu.
- V. Elde edilen cDNA'lar, qRT-PCR yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.3 Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR)

BlaTaq™ 2X qPCR MasterMix kullanılarak cDNA'lar için qRT-PCR gerçekleştirildi.

- I. PCR reaksiyon karışımı Tablo 3.6'ya göre hazırlandı.
- II. cDNA'lar 1:20 oranında dilüe edildi.

Tablo 3.7: qRT-PCR reaksiyonu hazırlanırken kullanılan reaktifler ve miktarları.

Materyal	Miktar
BlaTaq™ 2X qPCR Master Mix	10 µl
İleri Primer (10 µM)	0,5 µl
Geri Primer (10 µM)	0,5 µl
cDNA	2 µl
Nükleaz içermeyen su	7 µl
Toplam hacim	20 µl

- III. Karışım 96 kuyucuklu plağa dağıtılarak her cDNA örneği için duplike çalışıldı.
- IV. Tablo 3.6'ya göre hazırlanan plak 200 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- V. PCR cihazı Tablo 3.7'de belirtilen döngü parametrelerine göre ayarlandı ve PCR reaksiyonu gerçekleştirildi.

Tablo 3.8: qRT-PCR'da kullanılan döngü parametreleri.

Döngü sayısı	Sıcaklık	Zaman
1	95 °C	3 dakika
40	95 °C	15 saniye
	60 °C	1 dakika

3.2.4 İstatiksel analizler

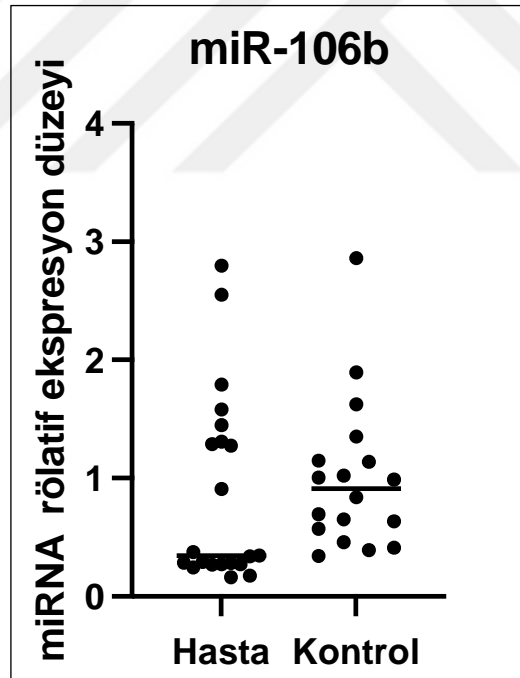
- I. qRT-PCR reaksiyonu Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA) cihazında gerçekleştirildi ve incelenen miRNA'lara ait döngü eşik değerleri (cycle threshold, Ct) belirlendi.
- II. miR-106b, miR-130a-3p, miR-194-5p'nin ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta Ct}$ yöntemi ile hesaplandı [72].
- III. Verilerin istatiksel analizleri SPSS 21.0 yazılımı (SPSS, Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı ve şekiller GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Inc., CA, ABD) programı ile tasarlandı.
- IV. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Normal dağılım göstermeyen verilerde grup farklılıklarını belirlemek için Mann-Whitney U testi yapıldı.
- V. Hasta grubundaki miRNA düzeylerinin korelasyonları, Spearman's rank korelasyon testi ile analiz edildi.
- VI. miRNA'ların biyobelirteç potansiyelini belirlemek amacıyla alıcı işletim karakteristiği (ROC) eğrileri oluşturularak, eğri altındaki alan (AUC) hesaplandı.
- VII. ROC analizinde Youden J Index'e göre *cut-off* (eşik) değeri belirlendi ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

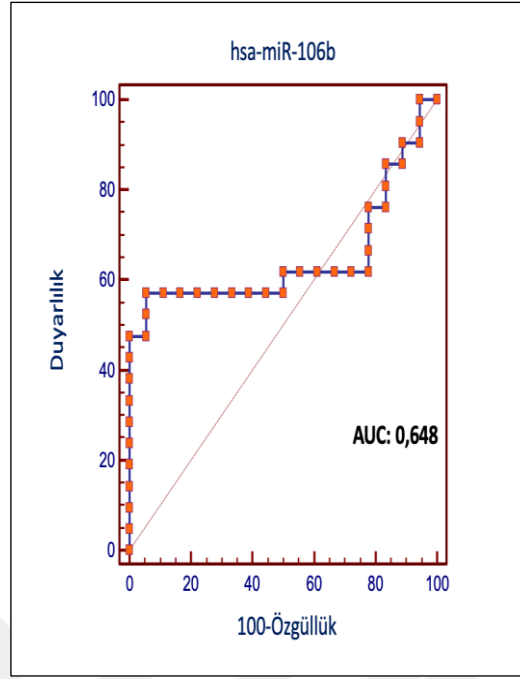
4.1 MikroRNA Ekspresyon Seviyeleri ve ROC Analizi

- **miR-106b**

miR-106b ekspresyon seviyesi hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 4.1). ROC analizi sonucunda elde edilen AUC değeri 0,648 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2) (Tablo 4.1).



Şekil 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının görece miR-106b ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.



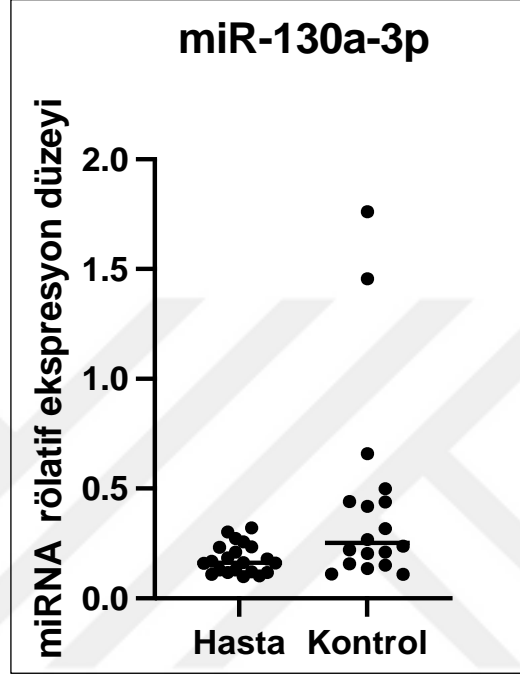
Şekil 4.2: miR-106b ROC eğrisi analizi.

Tablo 9.1: miR-106b ROC analizi.

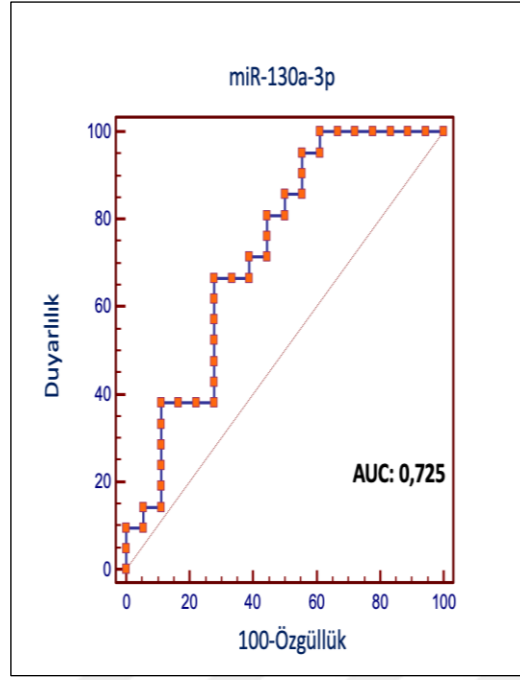
ROC eğrisinin altındaki alan (AUC)	0,648
Standart hata	0,0962
%95 Güven aralığı	0,479 - 0,794
Z skoru	1,541
Anlamlılık düzeyi P (Alan=0,5)	0,1234

- **miR-130a-3p**

miR-130a-3p ekspresyon seviyesi kontrol grubuna kıyasla hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.3). ROC analizi sonucunda elde edilen AUC değeri 0,725 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.4) (Tablo 4.2).



Şekil 4.3: Hasta ve kontrol gruplarının görece miR-130a-3p ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.



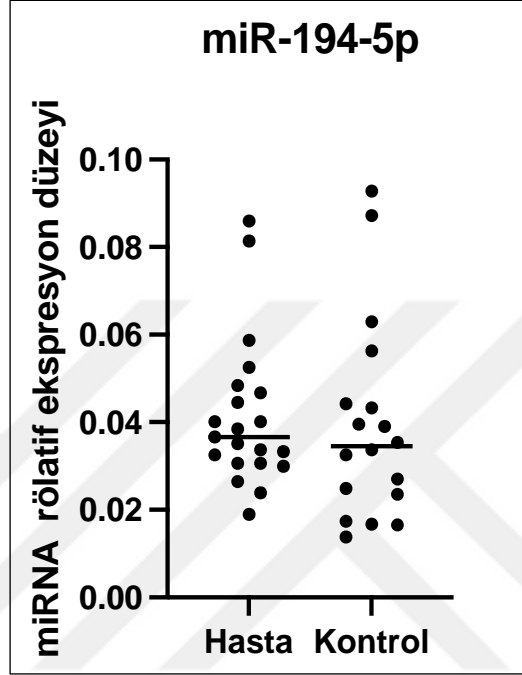
Şekil 4.4: miR-130a-3p ROC eğrisi analizi.

Tablo 10.2: miR-130a-3p ROC analizi.

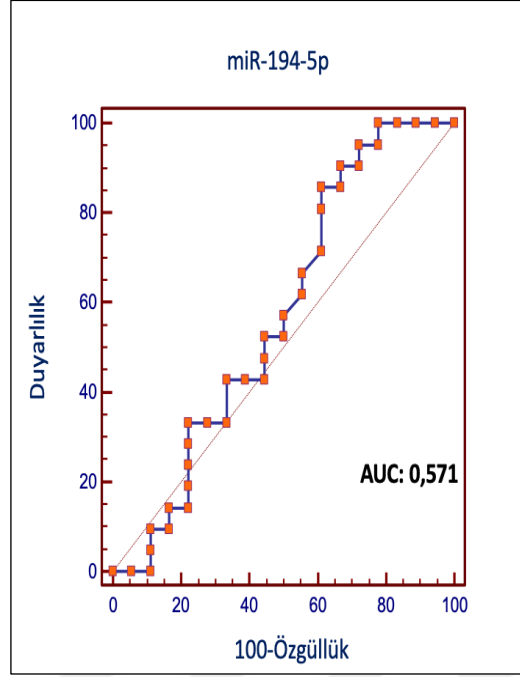
ROC eğrisinin altındaki alan (AUC)	0,725
Standart hata	0,0854
%95 Güven aralığı	0,559 - 0,855
Z skoru	2,633
Anlamlılık düzeyi P (Alan=0,5)	0,0085

- **miR-194-5p**

miR-194-5p'nin ekspresyon seviyesi hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (Şekil 4.5). ROC analizi sonucunda elde edilen AUC değeri 0,571 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6) (Tablo 4.3).



Şekil 4.5: Hasta ve kontrol gruplarının görece miR-194-5p ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.



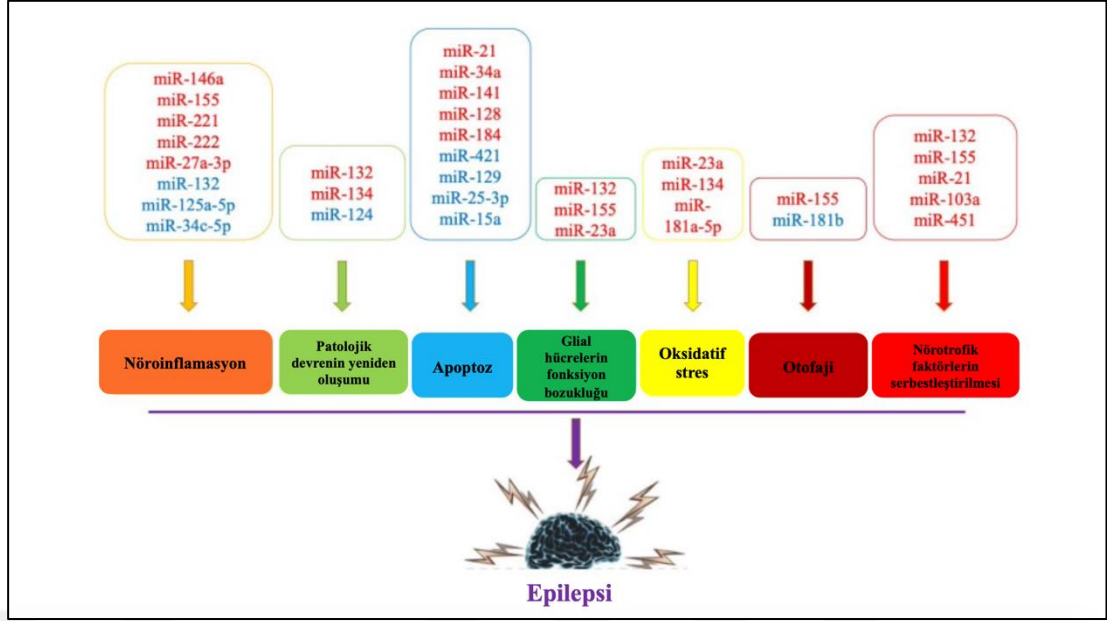
Şekil 4.6: miR-194-5p ROC eğrisi analizi.

Tablo 11.3: miR-194-5p ROC analizi.

ROC eğrisinin altındaki alan (AUC)	0,571
Standart hata	0,0981
%95 Güven aralığı	0,403 - 0,728
Z skoru	0,728
Anlamlılık düzeyi P (Alan=0,5)	0,4668

5. TARTIŞMA

Epilepsinin birçok gen ve çevresel faktörün birbiri ile etkileşimi sonucu oluşan hem klinik hem de genetik heterojeniteye sahip bir hastalık olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda araştırdığımız GJE alt tipinde de bahsedilen heterojenite devam etmektedir [73]. Hastalığın tanı ve takibi EEG, nörogörüntüleme analizleri ve genetik testler ile yapılabilmektedir [74]. Ancak GJE tanısını koyabilecek tek bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Epilepsi alanında tanısal biyobelirteçlerin keşfine dair yapılan çalışmalarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Araştırma alanında ilerlemeler olmasına karşın klinikte kullanım alanı bulabilen biyobelirteçlerin sayısı çok kısıtlıdır. Bunun sebebinin nöbetleri kontrol altına alabilmek için kullanılan AEİ'ler olduğu düşünülmektedir [75]. Bu moleküller araştırılmak istenilen biyobelirteç seviyelerine (örn. dolaşımdaki miRNA'lar) etki ederek ölçüm sonuçlarını bozabilmektedir. Özellikle EEG aktivitesinin ölçülmesi, Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) gibi nörogörüntüleme analizleri tanısal değere sahip olan geleneksel belirteçlerdendir [76]. Bunların yanı sıra son yıllarda araştırılan miRNA'lar, proteinler, metabolitler ve bağışıklık sistemi bileşenleri epilepsi tiplerinin tanı ve takibinde biyobelirteçler olarak önerilmiştir [77-79]. Yukarıda verilen örneklerden de anlaşılacağı üzere kullanım potansiyeli olan biyobelirteçler çok çeşitli olabilmektedir ancak tezimiz kapsamında ele alınan GJE hastalığı, adından da anlaşılacağı üzere genetik etiyojjiye sahip olduğu için, genetik biyobelirteçlerden miRNA alt tipleri (miR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p) incelendi. Epilepsi ile ilişkili çok sayıda miRNA bulunmaktadır. Hastalığın etiopatogenezinde rol oynayan çeşitli miRNA'lar ile ilişkili oldukları yollar Şekil 5.1'de gösterilmektedir [66].

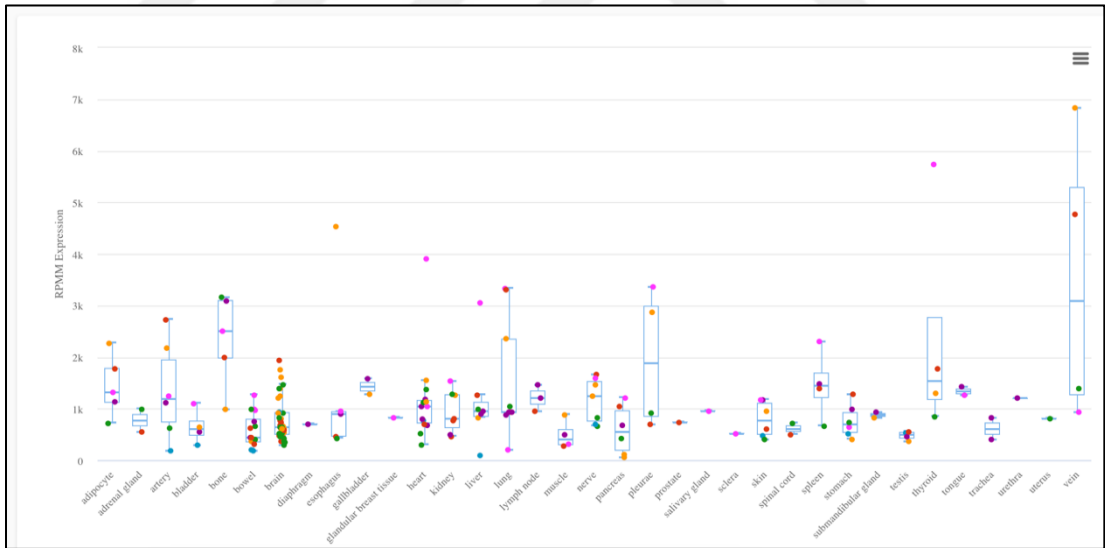


Şekil 5.1: Epilepsi ile ilişkili miRNA'lar [66].

Yukarıda ilişkilendirilen miRNA'lar dışında hastalığın oluşum mekanizmasında doğrudan rol oynadığı düşünülen farklı miRNA'lar da literatürde mevcuttur. Örneğin Süsgün ve ark. tarafından 2022 yılında yayımlanan bir makalede miR-1179'un JME patogenezinde rolünün olabileceği bildirilmiştir [80]. TLE ve SE'ye sahip 30 birey ile 15 sağlıklı kontrol grubunun, Beyin Omurilik Sıvısındaki (BOS) miRNA ekspresyon seviyelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, insan BOS'unun hem TLE hem de SE tanısını destekleyebilecek miRNA biyobelirteçleri içerdiği bulunmuştur. Yapılan çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, TLE ve/veya SE hastalarından alınan BOS örneklerinde, miR-19b-3p, miR-21-5p ile miR-451a seviyelerinde farklı ekspresyon paternleri tespit edilmiştir [81]. İlaç tedavisi ile epileptik durumun önüne geçilemediği durumlarda hasta ilaca dirençli hale gelmektedir ve dolaşımdaki bazı miRNA'ların bu durumla ilişkili olduğu bulunmuştur [66]. 2015 yılında yayımlanan ve 107 ilaca dirençli epilepsi hastası, 111 ilaca yanıt veren epilepsi hastası ile 85 kontrol grubunun değerlendirildiği bir çalışmada, miR-301-3p'nin günümüzde ilaca dirençli epilepsi tanısında kullanılacak önemli bir genetik biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır [82]. Yukarıda örneklendirilen çalışmalara ek olarak epilepsi ve miRNA alanında birçok sayıda araştırma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir.

Epilepsi gibi karmaşık patofizyolojiye sahip bir hastalığın altında yatan nedenlerinin aydınlatılabilmesi ve tanıda kullanılabilmesi açısından miRNA'ların daha çok araştırılması ve pratikte uygulamasının yapılması gerekmektedir. Bu bağlamda tez çalışmamızda literatürde az sayıda araştırılan ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunan miRNA alt tiplerini hedef aldık.

Çalışmamız kapsamında incelediğimiz miRNA'lardan, miR-106b'nin birçok kanser türünde ekspresyon seviyesinin değiştiği, onkogenik özelliğe sahip bir miRNA alt tipi olduğu tespit edilmiştir. Bilindiği üzere miRNA çalışmalarının çıkış noktası özellikle kanser konusuna odaklanmıştır ve miR-106b bu özelliğiyle alandaki biyobelirteç çalışmalarına öncülük etmektedir [83]. Her ne kadar ilk olarak kanserde araştırılmış olsa da, günümüzde kardiyovasküler hastalıklardan nörolojik hastalıklara kadar geniş bir yelpazede bu miRNA'nın aday genetik biyobelirteç olma potansiyelinin incelendiği çalışmalar da literatürde mevcuttur [83, 84]. miR-106b bahsedilen hastalık gruplarından nörolojik bozukluklarda, özellikle Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı ile epilepsilerde araştırılan bir miRNA alt tipidir [85][86]. miR-106b'nin insan dokularının büyük bir kısmında eksprese olduğu bilinmektedir (Şekil 5.2) [87].

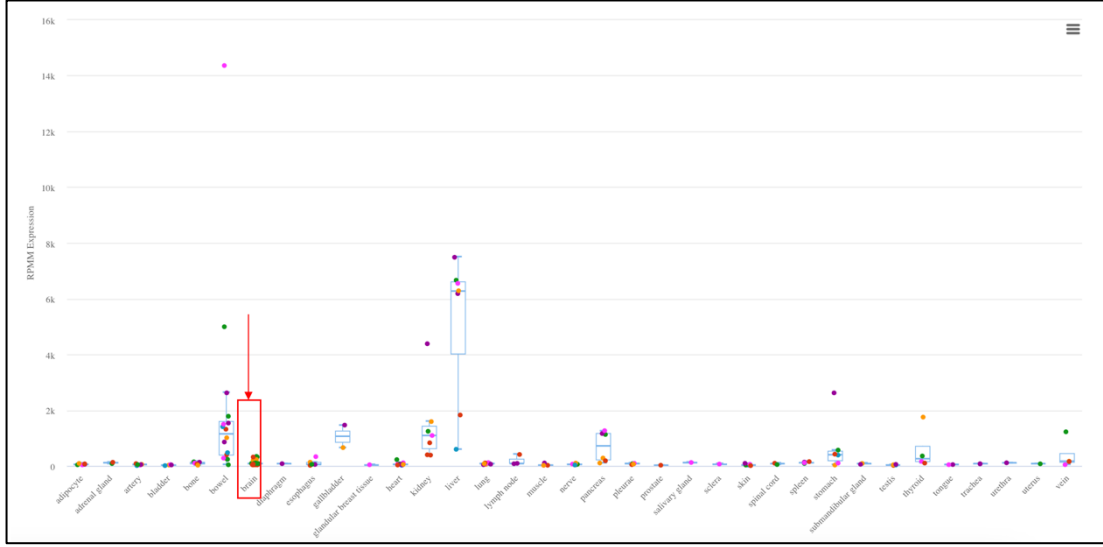


Şekil 5.2: miR-106b'nin eksprese olduğu insan dokuları [87].

MiR-106b'nin etkidiği mRNA sayısı oldukça fazladır ve bunlar arasında nörolojik hastalıkların fizyolojik yollarında görevli çok sayıda gen bulunmaktadır. Bu molekülün konumuz kapsamındaki en önemli yanı ise epilepsi hastalığında epileptogenez süreçlerinin düzenlenmesinde doğrudan rol oynamasıdır. miR-106b, epileptogenez süreçlerine nöroinflamasyon, proliferasyon ve nörogenesis gibi birçok farklı alanda etki etmektedir [86, 88]. Bahsedilen süreçlerde yer alan genlerin düzensizliği, epilepsi gelişimine neden olabileceği için bu durumun ilgili genlere çeşitli şekillerde etkiyen miRNA'lar tarafından düzenlenmesi epilepsi oluşumunun önüne geçebilmektedir [89]. Epilepsi hastalarının incelendiği çok sayıda miRNA ekspresyon çalışmasında, hastalar ile sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında, bireylerin serumlarında miR-106b'nin farklı şekillerde eksprese olduğu bulunmuştur [90]. Bu durum miRNA ekspresyon çalışmalarında oldukça yaygın olarak karşılaşılan bir olgudur ve çalışmamızda da aşağıda ayrıntılandırılacağı üzere, literatüre uyumlu sonuçlar elde edilen ve/veya edilmeyen bulgular tespit edilmiştir. miRNA seviyelerindeki bu farklılıkların hastalığın patofizyolojisi yönünden de çeşitli durumlara yol açtığı bilinmektedir. Örneğin sinir sistemindeki nöronların elektriksel aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu bilinen *KCNQ2* geninin mutasyonu erken başlangıçlı epilepsi ile ilişkilidir. Hastalığın altında yatan mekanizmanın aydınlatılabilmesi için yapılan RNA dizi analizleri ve sonrasında yapılan biyoinformatik çalışmalar sonucunda miR-106b molekülünün ifade seviyesinde meydana gelen değişimlerin bu geni etkilediği tespit edilmiştir [91]. Bir başka örnek olarak; çocukluk çağı epilepsisinin etiyolojisinde, en sık genetik nedenlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Örneğin; Elnady ve ark. tarafından yapılan ve 50 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada bahsedilen epilepsi tipinde miR-106b'nin ekspresyon düzeylerinin incelendiği ve sonuçta potansiyel genetik biyobelirteç olarak kullanılmasına dair güçlü kanıtlar elde edilmiştir [86]. Literatürde GJE alt tipinde yapılan çalışmalar sınırlı olmasına rağmen, 2015 yılında Wang ve ark. tarafından yapılan ve 90 birey ile 90 kontrol grubunun dahil edildiği bir araştırmada miR-106b'nin iki farklı miRNA (miR-301a, miR-146a) ile karşılaştırıldığında epilepsi için diğerlerine göre daha kesin tanısal değere sahip olduğu bulunmuştur [92]. Literatürde 30 birey ile 20 kontrol grubunun incelendiği bir diğer çalışmada ise GJE hastalığına sahip olan bireylerin serumlarında, istatistiksel olarak anlamlı derecede miR-106b ekspresyon değişikliği bildirilmiştir [2]. Yukarıda bahsedilen çalışmalarla paralellik gösteren çok sayıda çalışma literatürde bulunmaktadır.

Bu çalışmaların tümü bir arada değerlendirildiğinde, hem epilepsi hem de farklı nörolojik hastalıkların, adı geçen miRNA alt tipi ile ilişkisinin yadsınamaz durumda olduğu açıktır. Çalışmamızda incelediğimiz ve istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edemediğimiz miR-106'yı düzenleyici rolü ve tanı potansiyeli dolayısıyla araştırmamıza dahil ettik. İstatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edememiş olmamızın nedenleri olarak; çalıştığımız kohortun sayısının azlığından veya demografik özelliklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bununla birlikte bu alanda daha geniş kapsamlı araştırmaların yapılmasıyla, miR-106b'nin olası genetik biyobelirteç rolünün daha net bir şekilde tespit edilebileceğini düşünmekteyiz.

Tezimiz kapsamında incelediğimiz bir diğer miRNA alt tipi olan miR-194-5p, kanser ve doku gelişimi de dahil olmak üzere farklı hastalıklarda çeşitli hücresel süreçlerdeki rolleri açısından incelenmektedir. Bu miRNA spesifik olarak tümör oluşumu ve karaciğer fonksiyonları ile ilişkilendirilmiştir [93, 94]. MiR-194-5p, bahsedilen biyolojik süreçlerle ilişkilendirilmiş olsa da, nispeten az sayıda nörolojik hastalıklardan Alzheimer hastalığı ve epilepsilerde de potansiyel biyobelirteç olma açısından incelendiği çalışmalar mevcuttur [95, 96]. MiR-194-5p'nin, serebellum, frontal lob, temporal lob ve hipotalamus gibi beyin bölgelerinde eksprese olduğu bilinmektedir (Şekil 5.3) [97]. MiR-194-5p'nin etkidiği mRNA sayısı oldukça fazladır ve bunlar arasında nörolojik hastalıkların fizyolojik yollarında görevli çok sayıda gen bulunmaktadır [98]. Ek olarak Spearman korelasyon analizi yapılarak bahsedilen miRNA'nın pozitif veya negatif korelasyon gösterdiği başka miRNA'lar da tespit edilmiştir. MiRNA'lardan pozitif korelasyon gösteren ve korelasyon skoru yüksek olanlar Tablo 5.1'de listelenmiştir.



Şekil 5.3: miR-194-5p'nin eksprese olduğu insan dokuları [97].

Tablo 5.1: miR-194-5p'nin pozitif korelasyon gösterdiği bazı miRNA'lar.

miRNA	Korelasyon katsayısı
hsa-miR-192-3p	0.9277310924369747
hsa-miR-192-5p	0.8882352941176471
hsa-miR-194-3p	0.8579434351901977
hsa-miR-215-5p	0.7030812324929974

Literatürde Alzheimer hastalığı ve farklı demans türlerine sahip 20 hasta ve 20 sağlıklı kontrolün dahil edildiği bir çalışmada, bireylerin BOS ve kanındaki miRNA ekspresyon profilleri incelenmiş olup hasta ve kontroller arasında çeşitli ekspresyon farklılıklarının var olduğu tespit edilmiştir [99]. Konumuz kapsamında ise miR-106b'de olduğu gibi miR-194-5p de epileptogenez mekanizmalarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu mekanizmalardan hipokampal nöron proliferasyonu, inflamasyon ve apoptoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [99]. *IGF1R*, nörogenez ve hücre sağkalımında önemli rollere sahip olan bir genidir [100].

MiRTarBase veritabanına göre, hsa-miR-194-5p, *IGF1R* mRNA'yı hedeflemektedir. *IGF1R* (ENSG00000140443) insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörünü kodlamaktadır (UniProt ID: P08069). Yapılan son araştırmalarda, *IGF1R*'nin insan epileptojenik dokusunda *up* regüle olduğu ve bu genin inhibisyonunun, sıçan modellerinde epileptik nöbet aktivitesini iyileştirdiği kanıtlanmıştır [100]. Bu bağlamda miR-194-5p, *IGF1R*'nin inhibisyonunu sağlayarak epilepside umut verici bir genetik tedavi seçeneği olabilir. Niu ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, miR-194-5p'nin azalan ekspresyon seviyesinin parsiyel epilepsilerden TLE ile ilişki olduğunu bulmuştur [95]. 2015 yılında ilaca dirençli hastaların dahil edildiği bir çalışmada yukarıda da örnek verildiği gibi miR-194-5p ekspresyon seviyesinin azaldığı bulunmuştur. Literatürde fokal ve jeneralize nöbet türüne sahip olan 90 bireyin dahil edildiği bir diğer çalışmada ise verilen örneklerle paralel olarak yine adı geçen miRNA'nın azalan ekspresyon seviyesi gösterdiği bildirilmiştir [92]. GJE alt tipinde yapılan vaka-kontrol çalışmasında 15 birey ile 20 kontrol grubu değerlendirilmiş ve miR-194-5p'nin invazif olmayan potansiyel genetik biyobelirteç olabileceğine dair kanıtlar elde edilmiştir [2]. Bu bulgular miR-194-5p'nin ekspresyon seviyesindeki değişikliğin epilepsi oluşumu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda incelediğimiz ve istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edemediğimiz miR-194-5p'yi düzenleyici rolü ve tanı potansiyeli dolayısıyla araştırmamıza dahil ettik. MiR-106b'de olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edememiş olmamızın nedenleri olarak; çalıştığımızda incelediğimiz kohortun sayısının görece azlığından veya demografik özelliklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ancak yukarıda verilen örnekler bakılacak olursa, bu alanda yapılan araştırmaların artmasıyla ve epilepsilerin mekanizmasının daha iyi aydınlatılmasıyla birlikte gelecekte miR-194-5p'nin hem tanı ve takibi hem de tedaviyi sağlayabilecek yararlı bir genetik araç olabileceğini düşünmekteyiz.

Son olarak çalışmamızda araştırdığımız ve istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz miR-130a-3p'nin nörolojik ve psikiyatrik hastalıklardan Alzheimer hastalığı, Spinal Musküler Atrofi (SMA), Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) ve epilepsilerde nöroinflamasyon, apoptoz, sinaptik plastisite, nöron gelişimi ile oksidatif stres gibi hücrel süreçlerde rol oynayan genleri hedefleyerek bu genleri düzenlediği bilinmektedir [101, 102]. Bahsedilen süreçlerden nöroinflamasyon ve oksidatif stresin, OSB patogeneğinde rol oynadığını gösteren birçok çalışma mevcuttur [103-105].

Nörogelişimsel bir bozukluk olan OSB heterojen doğası olan hastalıklardandır ve klasik genetik yaklaşımlarla yürülen çalışmalarla bu hastalıktaki aday genleri belirlemek her zaman için mümkün olamamaktadır. Son yıllarda hastalığın patofizyolojik mekanizmasının aydınlatılmasında miRNA'ların incelenmesine yönelik çok sayıda çalışma gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmaların bir bölümüne örnek olarak; Abu-Elneel ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada OSB tanılı hastaların ölüm sonrası serebellar kortekslerinde düzensiz (artan veya azalan) miRNA ifadeleri gözlemlenmiştir [106]. Literatürde, 55 hasta ve 55 kontrol grubunun dahil edildiği bir başka çalışmada, çeşitli miRNA'lardan spesifik olarak miR-130a-3p'nin OSB için potansiyel genetik biyobelirteç olabileceği bildirilmiştir [107]. Bu durum, miR-130a-3p'nin vücut dokularında ve/veya sıvılarında ekspresyon seviyesinin belirlenmesinin bahsedilen hastalığın tanı/takip süreçlerine katkıda bulunabilecek önemli bir yaklaşım olduğunu göstermektedir. Literatürde miR-130a-3p'nin etkilediği mRNA ve dolayısıyla hedeflediği gen sayısı, miRNA'larda oldukça rastlanan bir durum olarak, oldukça fazladır [108]. Hedeflediği genler arasında nörolojik hastalıkların fizyolojik süreçlerinde yer aldığı bilinen ölümle ilişkili protein kinaz 1 (*DAPK1*) geninin yüksek ekspresyon seviyesi, otofaji ve apoptoz ile güçlü bir şekilde pozitif korelasyon göstermektedir [109]. Bu bulgularla tutarlı olarak, birçok araştırmada da bahsedilen ilişki farklı deneysel modellerde gösterilmiştir [110, 111]. Örneğin, transgenik Alzheimer hastalığı fare modeli ile yapılan bir çalışmada *DAPK1* geni *knockdown* edilmiş olan farelerin kontrol grubuna göre daha yüksek bilişsel işlev geliştirdiği gözlemlenmiştir. Bu veriler birlikte ele alındığında miR-130a-3p bahsedilen geni doğrudan hedefleyerek Alzheimer hastalığında bilişsel işlevleri iyileştirmede yeni bir terapötik seçenek olarak düşünülebilir [110]. Bahsedilen miRNA'nın etkilediği genlere bir başka örnek olarak, *DICER1* MiRTarBase veritabanında bildirilmiştir. MiRNA biyogenez yolağında kritik bir öneme sahip olan Dicer enzimi insanlarda *DICER1* geni tarafından kodlanmaktadır. Hücrede herhangi bir miRNA'nın eksprese olamamasının sebebi olarak, öncül miRNA'lardan olgun miRNA'nın üretilmesi için gerekli olan Dicer enziminin kaybı olduğu bilinmektedir. Bahsedilen enzimin eksikliğinin, epilepsi de dahil olmak üzere çeşitli nörolojik bozukluklarla ilişkili olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir [112, 113]. Bu verilerden yola çıkarak, miR-130a-3p'nin *DICER1*'in ifadesini düzenleyerek Dicer enziminin verimli bir şekilde üretilmesini ve nihayetinde olgun miRNA oluşumuna etkiyerek ortaya çıkabilecek bozuklukların önüne geçebileceğini söylemek mümkündür.

MiR-130a-3p ile ilişkisi araştırılan bir diğer nörolojik hastalık olarak SMA, motor nöronları etkileyen ve bebeklik döneminde ölümcül olan nöromusküler bir hastalıktır. Hastalığın tedavisinde etkili olan ve 2017 yılından itibaren klinikte kullanılmaya başlanan Nusinersen, antisens oligonükleotid (ASO) sınıfına ait bir kimyasaldır [114]. Bahsedilen ilaç, gerek maliyet açısından gerek hastaların ilaca verdiği yanıtların değişiklik göstermesinden dolayı bazı dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle Nusinersenin, hastalığın prognozuna nasıl etki ettiğine dair fikir verebilmesi açısından girişimsel olmayan, klinik örneklerden görece kolay elde edilebilen anlamlı genetik biyobelirteçler araştırılmaya başlanmıştır. Bu bağlamda klinik öncesi yapılan çalışmalar, miRNA düzensizliğinin SMA patogenezinde rol oynadığını ve böylece bu moleküllerin biyobelirteç olarak fikir verebilme potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir [115]. Bu çalışmalara örnek olarak; yakın zamanda yayımlanan bir çalışmada Nusinersen ile tedavi uygulanan SMA'lı çocuklarda, tedavi boyunca BOS'ta değişen miRNA ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. İlacın uygulandığı ilk aşamadan tedavi sonuna kadar 14 miRNA'nın farklı şekilde eksprese olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda üzerinde durduğumuz miR-130a-3p, 14 miRNA içerisinden Nusinersen tedavisi sırasında BOS'ta en fazla ekspresyon değişikliğinin olduğu miRNA olarak bildirilmiştir [116]. Literatürde 20 SMA tanısı almış hasta ile yedi sağlıklı kontrolün dahil edildiği bir başka çalışmada ise kan örneklerindeki miRNA düzeyleri ve bu miRNA'ların Nusinersen tedavisine yanıtları araştırılmıştır. miR-130a-3p'nin de dahil olduğu 69 miRNA'nın düzensizliği hasta ve kontroller arasında tespit edilmiştir [117]. Yukarıda verilen örnekler, SMA hastalığı ve miR-130a-3p arasındaki ilişkiyi açıkça ortaya koymaktadır ancak literatürde bu alanda yapılan çalışmaların sayısının görece azlığı ve daha büyük SMA kohortlarında geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu da bir gerçektir. Bu çalışmaların artması miRNA'ların, SMA patogenezinde yer aldığı süreçlere ilişkin daha fazla bilgi sağlayabilir ve böylece BOS veya dolaşımdaki miRNA'lar, hastalığın tedaviye yanıtını öngörmek veya takibini sağlamak için potansiyel biyobelirteçler olarak gelecekte kullanılabilir. Yukarıda verilen örneklerden sonra tezimiz kapsamında incelediğimiz epilepsiye dair ise; literatürde bahsedilen miRNA'nın epilepsi ile ilişkisi üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Fakat bu sınırlılığa rağmen yapılan araştırmalarda potansiyel biyobelirteç ve terapötik bir seçenek olma açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçları vardır.

Örneğin Wang ve ark. tarafından 30 hasta ile 30 kontrol grubunun dahil edildiği ve serum miRNA düzeylerindeki farklılıkların incelendiği bir çalışmada miR-130a-3p'nin düzensiz ifadeleri gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada 14 GJE tanısı almış hasta ile 14 kontrol grubunda altı düzensiz miRNA'nın (let-7d-5p, miR-106b-5p, miR-15a-5p, miR-194-5p ve miR-130a-3p) GJE hastalığı ile ilişkisi incelenmiştir ve miR-130a-3p kontrol grubuna kıyasla hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,0001$) [118]. Literatürde bu ilişkiyi destekleyen farklı deneysel modellerde yapılan araştırmalarda mevcuttur [54, 119]. Bu bağlamda miR-130a-3p'nin artan veya azalan ifadesinin epilepsi alt tipleriyle ilişkili olabileceğini söylemek mümkündür. MiR-130a-3p'nin hedeflediği genlere bir başka örnek olarak yüksek hareketli grup protein izoformları I (*HMGAI*) geninin artan ekspresyon seviyesi, epilepsi oluşumunda inflamasyon, nörodejenerasyon ve protein sentezinin düzensizliğinde rol aldığı bildirilmiştir [120]. Bu durumda miR-130a-3p, bahsedilen genin aktivasyonunu direkt veya dolaylı bir şekilde etkileyerek hastalığın oluşum mekanizmasındaki hücresel süreçleri düzenleyebilir. Yapılan farklı bir çalışmada vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 2 (VEGFR-2) ve miR-130a-3p arasındaki ilişki incelenmiştir. VEGFR-2, MSS hastalıklarında aksonal büyüme, inflamasyon ile nöronal hücre sağkalımı üzerinde etkileri olan bir büyüme faktörüdür. Bahsedilen araştırmada, miR-130a-3p'nin VEGFR-2 ekspresyonu üzerinde doğrudan veya dolaylı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur [121]. Bu bilgiler, miR-130a-3p'nin VEGFR-2 sinyal yolağını düzenleyerek MSS hastalıklarında ve özellikle konumuz kapsamında olan epilepsilerde güçlü bir terapötik seçenek olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir. Yukarıda söz edildiği gibi bu alanda az araştırma yapılmasına ve görece heterojen yapıda olan Türkiye popülasyonunda çalışmamıza rağmen istatistiksel olarak iki farklı analizle anlamlı olduğu tespit edilen miR-130a-3p'nin hastalığın tanı ve takibinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilceğini düşünmekteyiz ancak ilerleyen dönemde bu miRNA'nın güvenilirliği daha geniş ve kapsamlı kohortlar incelenerek doğrulanması gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyobelirteçler hastalık tanı ve takip süreçlerinde önemlidir. Araştırmacılar özellikle son yıllarda genetik biyobelirteçler üzerine yoğunlaşmışlardır. Bunların arasından miRNA'lar, birçok nörolojik hastalığın tanı/takip süreçlerinde potansiyel biyobelirteç olarak araştırılmakta ve bu kapsamda yapılan çalışmaların sayısının, ilerleyen dönemde artacağı anlaşılmaktadır [56-58]. Çalışmamıza dahil ettiğimiz üç miRNA alt tipinin spesifik olarak GJE ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [2, 92]. Literatürde epilepsi alt tiplerinde yapılan çalışmalarda farklı işlevlere sahip miRNA'ların, hastalığın etiyopatogenezinde fonksiyonel olduğu bulunmuştur. MiRNA'ların epileptogenez mekanizmasındaki hücresel süreçlerde rol aldığı ve bu süreçlerdeki düzensiz (artan veya azalan) ifadesinin hastalığın oluşumuna neden olan başlıca faktörlerden olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda hastalığa etkiyen miRNA'ların ve akabinde bu miRNA'ların etkilediği genlerin daha kapsamlı araştırılması, miRNA'ların yer aldığı fizyolojik süreçlerin belirlenmesine ve nihayetinde epileptogenez mekanizmasının daha iyi bir şekilde aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Bu bilgilere bakıldığında; çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilen miR-130a-3p'nin ilerleyen dönemde GJE'nin moleküler arka planının anlaşılmasına ve klinik pratikte tanı/prognoz aşamalarına katkıda bulunabilecek potansiyel bir genetik biyobelirteç olabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca bilindiği üzere, terapötik seçenek olarak günümüzde SMA hastalığı başta olmak üzere çeşitli nörolojik hastalıklarda miRNA'lara karşı tasarlanan uygun ASO/Anti-miR kullanımına dair tedavi yöntemleri mevcuttur [114, 115]. Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerle birlikte miR-130a-3p'nin, ilerleyen dönemde GJE özelinde yapılabilecek ASO tedavisi için önemli bir aday olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] **Dervent, A.** (2014). Idiopathic Generalised Epilepsies with Onset in Childhood and Adolescence. *J. Turkish Epilepsi Society*, 20(1), 13–22.
- [2] **Moustafa, M., Abokrysha, N. T., Eldesoukey, N. A., Amin, D. G., Mounir, N., & Labib, D. M.** (2020). Role of circulating miR 194-5p, miR 106b, and miR 146a as potential biomarkers for epilepsy: a case-control study. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, 56(1).
- [3] **Enright, N., Simonato, M., & Henshall, D. C.** (2018). Discovery and validation of blood microRNAs as molecular biomarkers of epilepsy: Ways to close current knowledge gaps. *Epilepsia Open*, 3(4), 427–436.
- [4] **Reynolds, E. H., & Wilson, J. V.** (1990). Translation and analysis of a cuneiform text forming part of a babylonian treatise on epilepsy. *Medical History*, 34(2), 185–198.
- [5] **Lai, C. W., & Lai, Y. C.** (1991). History of Epilepsy in Chinese Traditional Medicine. *Epilepsia*, 32(3), 299–302.
- [6] **Manyam, B. V.** (1992). Epilepsy in Ancient India. *Epilepsia*, 33(3), 473–475.
- [7] **Moog, F. P., & Karenberg, A.** (2003). Between horror and hope: Gladiator's blood as a cure for epileptics in ancient medicine. *Journal of the History of the Neurosciences*, 12(2), 137–143.
- [8] **Murphy, E. L.** (1959). The saints of epilepsy. *Medical History*, 3(4), 303–311.
- [9] **Owczarek, K., & Jedrzejczak, J.** (2013). Chrześcijaństwo i padaczka. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, 47(3), 271–277.
- [10] **Akhtar, S. W., & Aziz, H.** (2004) Perception of epilepsy in Muslim history; with current scenario. *Neurology Asia*, 9(1), 59–60.
- [11] **Asadi-Pooya, A., Nikseresht, A., & Yaghoubi, E.** (2012). Old remedies for epilepsy: Avicenna's medicine. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 14(3), 174–177.
- [12] **Magiorkinis, E., Sidiropoulou, K., & Diamantis, A.** (2010). Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity. *Epilepsy & Behavior*, 17(1), 103–108.
- [13] **Tarih boyunca epilepsi.** (2019). Retrieved February 17, 2019, from <http://epilepsicerrahisi.com/>
- [14] **Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., & Sander, J. W.** (2019). Epilepsy in adults. *The Lancet*, 393(10172), 689–701.
- [15] **Jette, N., Fiest, K.M., Sauro, K. M., Wiebe, S., & Patten, S. B.** (2017). Author response: Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*, 89(6), 641–642.
- [16] **Beghi, E.** (2020). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2), 185–191.
- [17] **Tekeli, H., Yaşar, H., Kendirli, M. T., Şenol, M. G., Özdağ, F., & Saraçoğlu, M.** (2012). The Prevalence of Epilepsy in Young Turkish Males. *Epilepsi*, 18(1), 1–6.
- [18] **Bambal, G., & ark.** (2011). Epilepsi Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*, 3(3), 42–45.

- [19] **Lukawski, K., Andres-Mach, M., Czuczwar, M., Łuszczki, J. J., Kruszyński, K., & Czuczwar, S. J.** (2018). Mechanisms of epileptogenesis and preclinical approach to antiepileptogenic therapies. *Pharmacological Reports*, 70(2), 284–293.
- [20] **Stafstrom, C. E., Hagerman, P. J., & Pessah, I. N.** (2010). Epilepsy in autism spectrum disorders. *Epilepsia*, 51(5), 78–78.
- [21] **Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., & ark.** (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521.
- [22] **Shorvon, S. D.** (2011). The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*, 52(6), 1052–1057.
- [23] **Patel, P., & Moshé, S. L.** (2020). The evolution of the concepts of seizures and epilepsy: What’s in a name?. *Epilepsia Open*, 5(1), 22–35.
- [24] **Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy.** (1989). Proposal for Revised Classification of Epilepsies and Epileptic Syndromes. *Epilepsia*, 30(4), 389–399.
- [25] **Mullen, S. A., & ark.** (2018). Genetic generalized epilepsies. *Epilepsia*, 59(6), 1148–1153.
- [26] **Hirsch, E., & ark.** (2022) ILAE definition of the Idiopathic Generalized Epilepsy Syndromes: Position statement by the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia*, 63(6), 1475–1499.
- [27] **Berkovic, S. F., Howell, R. A., Hay, D. A., & Hopper, J. L.** (1998). Epilepsies in twins: Genetics of the major epilepsy syndromes. *Annals of Neurology*, 43(4), 435–445.
- [28] **Sillanpää, M., Koskenvuo, M., Romanov, K., & Kaprio, J.** (1991). Genetic factors in epileptic seizures: evidence from a large twin population. *Acta Neurologica Scandinavica*, 84(6), 523–526.
- [29] **Kjeldsen, M. J., & ark.** (2005). Genetic factors in seizures: A population-based study of 47,626 US, Norwegian and Danish twin pairs. *Twin Research Human Genetics*, 8(2), 138–147.
- [30] **Kjeldsen, M. J., Corey, L. A., Christensen, K., & Friis, M. L.** (2003). Epileptic seizures and syndromes in twins: The importance of genetic factors. *Epilepsy Research*, 55(1–2), 137–146.
- [31] **Speed, D., & ark.** (2014). Describing the genetic architecture of epilepsy through heritability analysis, *Brain*, 137(10), 2680–2689.
- [32] **Chen, T., Giri, M., Xia, Z., Subedi, Y. N., & Li, Y.** (2017). Genetic and epigenetic mechanisms of epilepsy: A review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 13, 1841–1859.
- [33] **Weber, Y. G., & Lerche, H.** (2008). Genetic mechanisms in idiopathic epilepsies. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 50(9), 648–654.
- [34] **Nicita, F., & ark.** (2012). The genetics of monogenic idiopathic epilepsies and epileptic encephalopathies. *Seizure*, 21(1), 3–11.
- [35] **Helbig, I., & Lowenstein, D. H.** (2013). Genetics of the epilepsies: Where are we and where are we going?. *Current Opinion in Neurology*, 26(2), 179–185.
- [36] **Morante-Redolat, J. M., & ark.** (2002). Mutations in the LGI1/Epitempin gene on 10q24 cause autosomal dominant lateral temporal epilepsy. *Human Molecular Genetics*, 11(9), 1119–1128.
- [37] **Kalachikov, S., & ark.** (2002). Mutations in LGI1 cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. *Nature Genetics*, 30(3), 335–341.

- [38] **International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies.** (2018). Genome-wide mega-analysis identifies 16 loci and highlights diverse biological mechanisms in the common epilepsies. *Nature Communications*, 9(1), 5269.
- [39] **Ellis, C. A., Petrovski, S., & Berkovic, S. F.** (2020). Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *Lancet Neurology*, 19(1), 93–100.
- [40] **Bhaskaran, M., & Mohan, M.** (2014). MicroRNAs: History, Biogenesis, and Their Evolving Role in Animal Development and Disease. *Veterinary Pathology*, 51(4), 759–774.
- [41] **Brennan, G. P., & Henshall, D. C.** (2020). MicroRNAs as regulators of brain function and targets for treatment of epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 16(9), 506–519.
- [42] **Kim, V. N., Han, J., & Siomi, M. C.** (2009). Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(2), 126–139.
- [43] **Lee, R.C., Feinbaum, R.L., & Ambros, V.** (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843–854.
- [44] **Wightman, B., Ha, I., & Ruvkun, G.** (1993). Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75(5), 855–862.
- [45] **Pasquinelli, A. E., & ark.** (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408(6808), 86–89.
- [46] **Reinhart, B. J., & ark.** (2000). The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403(6772), 901–906.
- [47] **Griffiths-Jones, S., Saini, H. K., Van Dongen, S., & Enright, A. J.** (2008). miRBase: Tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Research*, 36, 154–158.
- [48] **Riffo-Campos, Á. L., Riquelme, I., & Brebi-Mieville, P.** (2016). Tools for sequence-based miRNA target prediction: What to choose?. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12).
- [49] **Chen, Y., & Wang, X.** (2020). MiRDB: An online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Research*, 48, 127–131.
- [50] **Leclercq, M., Diallo, A.B., & Blanchette, M.** (2017). Prediction of human miRNA target genes using computationally reconstructed ancestral mammalian sequences. *Nucleic Acids Research*, 45(2), 556–566.
- [51] **MacFarlane L.-A., & Murphy, P. R.** (2010). MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Current Genomics*, 11(7), 537–561.
- [52] **Hitit, M., Kurar, E., & Güzeloğlu, A.** (2015). MikroRNA Biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(3), 211–218.
- [53] **Fiorenza, A., Lopez-Atalaya, J. P., Rovira, V., Scandaglia, M., Gejjo-Barrientos, E., & Barco, A.** (2016). Blocking miRNA Biogenesis in Adult Forebrain Neurons Enhances Seizure Susceptibility, Fear Memory, and Food Intake by Increasing Neuronal Responsiveness. *Cerebral Cortex*, 26(4), 1619–1633.
- [54] **McKiernan, R. C., & ark.** (2012). Reduced mature microRNA levels in association with *dicer* loss in human temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *PLoS One*, 7(5).
- [55] **Condrat, C. E., & ark.** (2020). miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. *Cells*, 9(2), 1–32.

- [56] **Lawrie, C. H., & ark.** (2008). Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*, 141(5), 672–675.
- [57] **Niedźwiecki, S., Piekarski, J., Szymańska, B., Pawłowska, Z., & Jeziorski, A.** (2018). Serum levels of circulating miRNA-21, miRNA-10b and miRNA-200c in triple-negative breast cancer patients. *Ginekologia Polska*, 89(8), 415–420.
- [58] **Nhung Nguyen, T. P., Kumar, M., Fedele, E., Bonanno, G., & Bonifacino, T.** (2022). MicroRNA Alteration, Application as Biomarkers, and Therapeutic Approaches in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9).
- [59] **Wiedrick, J. T., & ark.** (2019). Validation of MicroRNA Biomarkers for Alzheimer’s Disease in Human Cerebrospinal Fluid. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 67(3), 875–891.
- [60] **Corsten, M. F., & ark.** (2010). Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circulation Cardiovascular Genetics*, 3(6), 499–506.
- [61] **Fayez, S. S., & ark.** (2022). Role of Different Types of miRNAs in Some Cardiovascular Diseases and Therapy-Based miRNA Strategies: A Mini Review. *Biomed Research International*, 1–9.
- [62] **Reschke, C. R., & Henshall, D. C.** (2015). microRNA and Epilepsy. In *microRNA: Medical Evidence From Molecular Biology to Clinical Practice* (pp. 41–70). Springer, Singapore.
- [63] **Henshall, D. C.** (2013). MicroRNAs in the pathophysiology and treatment of status epilepticus. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 6, 1–11.
- [64] **Ma, Y.** (2017). The Challenge of microRNA as a Biomarker of Epilepsy. *Current Neuropharmacology*, 16(1), 37–42.
- [65] **Symonds, J. D., Zuberi, S. M., & Johnson, M. R.** (2017). Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Current Opinion in Neurology*, 30(2), 193–199.
- [66] **Wang, J., & Zhao, J.** (2021). MicroRNA Dysregulation in Epilepsy: From Pathogenetic Involvement to Diagnostic Biomarker and Therapeutic Agent Development. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, 1–11.
- [67] **Henshall, D. C., & ark.** (2016). MicroRNAs in epilepsy: pathophysiology and clinical utility. *Lancet Neurology*, 15(13), 1368–1376.
- [68] **Tiwari, D., Peariso, K., & Gross, C.** (2018). MicroRNA-induced silencing in epilepsy: Opportunities and challenges for clinical application. *Developmental Dynamics*, 247(1), 94–110.
- [69] **Avansini, S. H., & ark.** (2017). MicroRNA hsa-miR-134 is a circulating biomarker for mesial temporal lobe epilepsy. *PLoS One*, 12(4), 1–10.
- [70] **Antônio, L. G. L., & ark.** (2019). Expression of MicroRNAs miR-145, miR-181c, miR-199a and miR-1183 in the Blood and Hippocampus of Patients with Mesial Temporal Lobe Epilepsy. *Journal of Molecular Neuroscience*, 69(4), 580–587.
- [71] **Martins-Ferreira, R., & ark.** (2020). Circulating microRNAs as potential biomarkers for genetic generalized epilepsies: a three microRNA panel. *European Journal of Neurology*, 27(4), 660–666.
- [72] **Livak, K. J., & Schmittgen, T. D.** (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, California)*, 25(4), 402–408.

- [73] **Guerrini, R., Balestrini, S., Wirrell, E.C., & Walker, M.C.** (2021). Monogenic Epilepsies: Disease Mechanisms, Clinical Phenotypes, and Targeted Therapies. *Neurology*, 97(17), 817-831.
- [74] **Goldenberg M. M.** (2010). Overview of drugs used for epilepsy and seizures: etiology, diagnosis, and treatment. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management*, 35(7), 392–415.
- [75] **Slinger, G., Stevelink, R., van Diessen, E., Braun, K. P. J., & Otte, W. M.** (2023). The importance of discriminative power rather than significance when evaluating potential clinical biomarkers in epilepsy research. *Epileptic disorders : international epilepsy journal with videotape*, 25(3), 285–296.
- [76] **van Vliet, E. A., Dedeurwaerdere, S., Cole, A. J., Friedman, A., Koepp, M. J., Potschka, H., Immonen, R., Pitkänen, A., & Federico, P.** (2017). WONOEP appraisal: Imaging biomarkers in epilepsy. *Epilepsia*, 58(3), 315–330.
- [77] **An, N., Zhao, W., Liu, Y., Yang, X., & Chen, P.** (2016). Elevated serum miR-106b and miR-146a in patients with focal and generalized epilepsy. *Epilepsy research*, 127, 311–316.
- [78] **Clarkson, B. D. S., LaFrance-Corey, R. G., Kahoud, R. J., Farias-Moeller, R., Payne, E. T., & Howe, C. L.** (2019). Functional deficiency in endogenous interleukin-1 receptor antagonist in patients with febrile infection-related epilepsy syndrome. *Annals of neurology*, 85(4), 526–537.
- [79] **Wang, R., Zeng, G. Q., Liu, X., Tong, R. Z., Zhou, D., & Hong, Z.** (2016). Evaluation of serum matrix metalloproteinase-3 as a biomarker for diagnosis of epilepsy. *Journal of the neurological sciences*, 367, 291–297.
- [80] **Süsgün S. , Toruntay C. , Bayrakoğlu A. , Uslu F., & Yücesan E.** (2022). Assessment of miR-1179 As a Potential Biomarker in Juvenile Myoclonic Epilepsy. *Experimed*, 12(1), 1-5.
- [81] **Raof, R., Jimenez-Mateos, E. M., Bauer, S., Tackenberg, B., Rosenow, F., Lang, J., Onugoren, M. D., Hamer, H., Huchtemann, T., Körtvélyessy, P., Connolly, N. M. C., Pfeiffer, S., Prehn, J. H. M., Farrell, M. A., O'Brien, D. F., Henshall, D. C., & Mooney, C.** (2017). Cerebrospinal fluid microRNAs are potential biomarkers of temporal lobe epilepsy and status epilepticus. *Scientific reports*, 7(1), 3328.
- [82] **Wang, J., Tan, L., Tan, L., Tian, Y., Ma, J., Tan, C. C., Wang, H. F., Liu, Y., Tan, M. S., Jiang, T., & Yu, J. T.** (2015). Circulating microRNAs are promising novel biomarkers for drug-resistant epilepsy. *Scientific reports*, 5, 10201.
- [83] **Wehrkamp, C. J., Natarajan, S. K., Mohr, A. M., Phillippi, M. A., & Mott, J. L.** (2018). miR-106b-responsive gene landscape identifies regulation of Kruppel-like factor family. *RNA biology*, 15(3), 391–403.
- [84] **Ren, J., Zhang, J., Xu, N., Han, G., Geng, Q., Song, J., Li, S., Zhao, J., & Chen, H.** (2013). Signature of circulating microRNAs as potential biomarkers in vulnerable coronary artery disease. *PloS one*, 8(12), e80738.
- [85] **Park, J. S., Kim, S. T., Kim, S. Y., Jo, M. G., Choi, M. J., & Kim, M. O.** (2019). A novel kit for early diagnosis of Alzheimer's disease using a fluorescent nanoparticle imaging. *Scientific reports*, 9(1), 13184.
- [86] **Elnady, H. G., Abdelmoneam, N., Eissa, E., Hamid, E. R. A., Zeid, D. A., Abo-Shanab, A. M., Atta, H., & Kholoussi, N. M.** (2019). MicroRNAs as Potential Biomarkers for Childhood Epilepsy. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(23), 3965–3969.

- [87] **Chair for Clinical Bioinformatics Tissue Atlas.** (2016). "hsa-miR-106b-5p". (Erişim tarihi: 10.09.2023). <https://ccb-web.cs.uni-saarland.de/tissueatlas2/patterns/hsa/mirna/hsa-miR-106b-5p>.
- [88] **Yakovleva, K. D., Dmitrenko, D. V., Panina, I. S., Usoltseva, A. A., Gazenkampf, K. A., Konovalenko, O. V., Kantimirova, E. A., Novitsky, M. A., Nasyrova, R. F., & Shnayder, N. A.** (2022). Expression Profile of miRs in Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 951.
- [89] **Feng, Y., Yang, H., Yue, Y., & Tian, F.** (2020). MicroRNAs and target genes in epileptogenesis. *Epilepsia*, 61(10), 2086–2096.
- [90] **Sun, J., Cheng, W., Liu, L., Tao, S., Xia, Z., Qi, L., & Huang, M.** (2016). Identification of serum miRNAs differentially expressed in human epilepsy at seizure onset and post-seizure. *Molecular medicine reports*, 14(6), 5318–5324.
- [91] **Kim, K. W., Kim, K., Kim, H. J., Kim, B. I., Baek, M., & Suh, B. C.** (2021). Posttranscriptional modulation of KCNQ2 gene expression by the miR-106b microRNA family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(47).
- [92] **An, N., Zhao, W., Liu, Y., Yang, X. ve Chen, P.** (2016). Elevated serum miR-106b and miR-146a in patients with focal and generalized epilepsy. *Epilepsy research*, 127, 311–316.
- [93] **Liu, X., Ma, H., Wu, R., Wang, H., Xu, H., Li, S., Wang, G., Lv, G., & Niu, J.** (2022). Identification of Liver Fibrosis-Related MicroRNAs in Human Primary Hepatic Stellate Cells Using High-Throughput Sequencing. *Genes*, 13(12), 2201.
- [94] **Yen, Y. T., Yang, J. C., Chang, J. B., & Tsai, S. C.** (2021). Down-Regulation of miR-194-5p for Predicting Metastasis in Breast Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*, 23(1), 325.
- [95] **Niu, X., Zhu, H. L., Liu, Q., Yan, J. F., & Li, M. L.** (2021). MiR-194-5p serves as a potential biomarker and regulates the proliferation and apoptosis of hippocampus neuron in children with temporal lobe epilepsy. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMSA*, 84(5), 510–516.
- [96] **Sørensen, S. S., Nygaard, A. B., & Christensen, T.** (2016). miRNA expression profiles in cerebrospinal fluid and blood of patients with Alzheimer's disease and other types of dementia - an exploratory study. *Translational neurodegeneration*, 5, 6.
- [97] **Chair for Clinical Bioinformatics Tissue Atlas.** (2016). "hsa-miR-194-5p". (Erişim tarihi: 10.09.2023). <https://ccb-web.cs.uni-saarland.de/tissueatlas2/patterns/hsa/mirna/hsa-miR-194-5p>.
- [98] **Indian Statistical Institute TargetMiner.** (2019). "miRNA ID: hsa-miR-194-5p". (Erişim tarihi: 10.09.2023). https://www.isical.ac.in/~bioinfo_miu/final_html_targetminer/hsa-miR-194-5p.
- [99] **Dell'Aversana, C., Giorgio, C., D'Amato, L., Lania, G., Matarese, F., Saeed, S., Di Costanzo, A., Belsito Petrizzi, V., Ingenito, C., Martens, J. H. A., Pallavicini, I., Minucci, S., Carissimo, A., Stunnenberg, H. G., & Altucci, L.** (2017). miR-194-5p/BCLAF1 deregulation in AML tumorigenesis. *Leukemia*, 31(11), 2315–2325.

- [100] Jiang, G., Wang, W., Cao, Q., Gu, J., Mi, X., Wang, K., Chen, G., & Wang, X. (2015). Insulin growth factor-1 (IGF-1) enhances hippocampal excitatory and seizure activity through IGF-1 receptor-mediated mechanisms in the epileptic brain. *Clinical science (London, England : 1979)*, 129(12), 1047–1060.
- [101] Li, W., Shan, B. Q., Zhao, H. Y., He, H., Tian, M. L., Cheng, X., Qin, J. B., & Jin, G. H. (2022). MiR-130a-3p regulates neural stem cell differentiation in vitro by targeting *Acs14*. *Journal of cellular and molecular medicine*, 26(9), 2717–2727.
- [102] Kumar, S., Curran, J. E., DeLeon, E., Leandro, A. C., Howard, T. E., Lehman, D. M., Williams-Blangero, S., Glahn, D. C., & Blangero, J. (2020). Role of miRNA-mRNA Interaction in Neural Stem Cell Differentiation of Induced Pluripotent Stem Cells. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 6980.
- [103] Matta, S. M., Hill-Yardin, E. L., & Crack, P. J. (2019). The influence of neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder. *Brain, behavior, and immunity*, 79, 75–90
- [104] Usui, N., Kobayashi, H., & Shimada, S. (2023). Neuroinflammation and Oxidative Stress in the Pathogenesis of Autism Spectrum Disorder. *International journal of molecular sciences*, 24(6), 5487.
- [105] Ohja, K., Gozal, E., Fahnestock, M., Cai, L., Cai, J., Freedman, J. H., Switala, A., El-Baz, A., & Barnes, G. N. (2018). Neuroimmunologic and Neurotrophic Interactions in Autism Spectrum Disorders: Relationship to Neuroinflammation. *Neuromolecular medicine*, 20(2), 161–173.
- [103] Abu-Elneel, K., Liu, T., Gazzaniga, F. S., Nishimura, Y., Wall, D. P., Geschwind, D. H., Lao, K., & Kosik, K. S. (2008). Heterogeneous dysregulation of microRNAs across the autism spectrum. *Neurogenetics*, 9(3), 153–161.
- [107] Mundalil Vasu, M., Anitha, A., Thanseem, I., Suzuki, K., Yamada, K., Takahashi, T., Wakuda, T., Iwata, K., Tsujii, M., Sugiyama, T., & Mori, N. (2014). Serum microRNA profiles in children with autism. *Molecular autism*, 5, 40.
- [108] Indian Statistical Institute TargetMiner. (2019). "miRNA ID: hsa-miR-130a-3p". (Erişim tarihi: 10.09.2023). https://www.isical.ac.in/~bioinfo_miu/final_html_targetminer/hsa-miR-130a-3p.
- [109] Su, Y., Deng, M. F., Xiong, W., Xie, A. J., Guo, J., Liang, Z. H., Hu, B., Chen, J. G., Zhu, X., Man, H. Y., Lu, Y., Liu, D., Tang, B., & Zhu, L. Q. (2019). MicroRNA-26a/Death-Associated Protein Kinase 1 Signaling Induces Synucleinopathy and Dopaminergic Neuron Degeneration in Parkinson's Disease. *Biological psychiatry*, 85(9), 769–781.
- [110] Wang, Y., Shi, M., Hong, Z., Kang, J., Pan, H., & Yan, C. (2021). MiR-130a-3p Has Protective Effects in Alzheimer's Disease via Targeting DAPK1. *American journal of Alzheimer's disease and other dementias*, 36.
- [111] Feng, M., Zhu, X., & Zhuo, C. (2021). H19/miR-130a-3p/DAPK1 axis regulates the pathophysiology of neonatal hypoxic-ischemia encephalopathy. *Neuroscience research*, 163, 52–62.
- [112] Alsharafi, W. A., Xiao, B., Abuhamed, M. M., & Luo, Z. (2015). miRNAs: biological and clinical determinants in epilepsy. *Frontiers in molecular neuroscience*, 8, 59.

- [113] Wang, Y., Lian, M., Zhou, J., & Wu, S. (2020). Brain Dicer1 Is Down-Regulated in a Mouse Model of Alzheimer's Disease Via A β 42-Induced Repression of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2. *Molecular neurobiology*, 57(11), 4417–4437.
- [114] Chiriboga C. A. (2017). Nusinersen for the treatment of spinal muscular atrophy. *Expert review of neurotherapeutics*, 17(10), 955–962.
- [115] Magri, F., Vanoli, F., & Corti, S. (2018). miRNA in spinal muscular atrophy pathogenesis and therapy. *Journal of cellular and molecular medicine*, 22(2), 755–767.
- [116] D'Silva, A. M., Kariyawasam, D., Venkat, P., Mayoh, C., & Farrar, M. A. (2023). Identification of Novel CSF-Derived miRNAs in Treated Paediatric Onset Spinal Muscular Atrophy: An Exploratory Study. *Pharmaceutics*, 15(1), 170.
- [117] Zaharieva, I. T., Scoto, M., Aragon-Gawinska, K., Ridout, D., Doreste, B., Servais, L., Muntoni, F., & Zhou, H. (2022). Response of plasma microRNAs to nusinersen treatment in patients with SMA. *Annals of clinical and translational neurology*, 9(7), 1011–1026.
- [118] Wang, J., Yu, J. T., Tan, L., Tian, Y., Ma, J., Tan, C. C., Wang, H. F., Liu, Y., Tan, M. S., Jiang, T., & Tan, L. (2015). Genome-wide circulating microRNA expression profiling indicates biomarkers for epilepsy. *Scientific reports*, 5, 9522.
- [119] Bot, A. M., Dębski, K. J., & Lukasiuk, K. (2013). Alterations in miRNA levels in the dentate gyrus in epileptic rats. *PloS one*, 8(10),
- [120] Bandopadhyay, R., Singh, T., Ghoneim, M. M., Alshehri, S., Angelopoulou, E., Paudel, Y. N., Piperi, C., Ahmad, J., Alhakamy, N. A., Alfaleh, M. A., & Mishra, A. (2021). Recent Developments in Diagnosis of Epilepsy: Scope of MicroRNA and Technological Advancements. *Biology*, 10(11), 1097.
- [121] Glaesel, K., May, C., Marcus, K., Matschke, V., Theiss, C., & Theis, V. (2020). miR-129-5p and miR-130a-3p Regulate VEGFR-2 Expression in Sensory and Motor Neurons during Development. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 3839.

EKLER

EK A: Etik kurul onayı



EKA

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onay/Tarih ve Sayı: 17.01.2023-E-92990

BEZMELEM VAKFI ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Genetik Jeneratör Epilepsilerde Biyobelirteç Belirlemesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURULU BİLGİLERİ	
ETİK KURULUN ADI	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRESİ:	Topkapı Mahallesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi) 34091 Fatih/İstanbul
TELEFON	(0212) 521 22 88 - 3538
FAKS	(0212) 533 23 26
E-POSTA	etikkurul@bezmilem.edu.tr

BAPURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANLI KİŞİ YADİ	Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANLI KİŞİ YADİ	-
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANLI KİŞİ YADİ (TÜBİTAK 18. gr. kayıtlı ise) veya destek ünitesi	-
	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"/> Gözlemlenmiş ilaç çalışması <input type="checkbox"/> Tıbbi cihaz klinik araştırması <input type="checkbox"/> In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları <input type="checkbox"/> İlaç dışı klinik araştırma <input checked="" type="checkbox"/> Diğer ve belirlenmemiş <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/> ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLMUR FORMU	Türkçe <input checked="" 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 BROSÜRÜ	Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	

Belge Adı	Tarhi	Version Numarası	Dili
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLMUR FORMU			Türkçe <input checked="" 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 BROSÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMAN

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. Evrak sorgulaması için: <https://turkiye.gov.tr/ebd7eKc-53948eD-BSD4H7ZZ746eS-92990> adresinden yapılabilir.

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onay/Tarih ve Sayı: 17.01.2023-E-92990

BEZMELEM VAKFI ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Genetik Jeneratör Epilepsilerde Biyobelirteç Belirlemesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Belge Adı		Açıklama
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLMUR FORMU	SİGORTA	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> 01.12.2019 tarihli, 21.12.2022 imzası tarihli
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>
	HAN	<input type="checkbox"/>
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		<input type="checkbox"/>
	Diğer:	<input checked="" type="checkbox"/> Klinik Araştırma Başvuru Formu (01.12.2019) - Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacıların ait özgeçmiş formları - Çalışmanın bilimsel bilimsel, İKULU* ya uygun yürütüleceğine dair tabiiyetname - Araştırma ile ilgili yazılar
Karar No: 014	Tarih: 11.01.2023	

Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyasına ile ilgili belgeler, araştırmacının/yöneticinin görüşüne, amaç, yöntem ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacının/yöneticinin başvuru dosyasında belirtilen merkezlere de gönderilmiştir. Etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına hükümlenmiştir. Etik kurul üyesi saygınlığı ve güvenliği ile Kurul üyeliği ile ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmacı/yöneticiler için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMAN

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. Evrak sorgulaması için: <https://turkiye.gov.tr/ebd7eKc-53948eD-BSD4H7ZZ746eS-92990> adresinden yapılabilir.

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onay/Tarih ve Sayı: 17.01.2023-E-92990

BEZMELEM VAKFI ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Genetik Jeneratör Epilepsilerde Biyobelirteç Belirlemesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMELEM VAKFI ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI									
BAKARAN ENYANT ADI / SOYAD: Prof. Dr. Özcan KARAMAN									
Unvanı/Adı/Soyadı	Unvanlık Alanı	Kurumu	Çinisi*	Araştırma ile ilgili	Karar *	İmza			
Prof. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Prof. Dr. Selhattin TUGRUL	Klinik Biyoloji ve Biyokimya	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Doç. Dr. Alper YENİGÜN	Klinik Biyoloji ve Biyokimya	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Prof. Dr. Ali Akşehin GÖZDEMİR	Tıbbi Farmakoloji	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Prof. Dr. Atila AKDEMİR	Farmakoloji	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Prof. Dr. Emel TORUN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Doç. Dr. Ahmet ÖZAYDIN	Tıbbi Genetik	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Doç. Dr. Mehmet BAĞKAL	Pedagoji	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Doç. Dr. Gülden ERGÜL ŞENTÜRK	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Dr. Öğr. Üyesi Elmi HACIOĞLANOĞLU	Biyoteknik	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Dr. Öğr. Üyesi Özgür PAŞIN	Biyostatistik ve Tıp Bilimleri	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Avukat Serkiye KARAHAN	Hukuk	Bezmîlem Vakfı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			
Mehmet Ali ERDOĞAN	Sağlık Meslekleri Mensubu Olmayan Üye	-	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> İ <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>			

* Toplantıda Bulunan Karar: Onaylandı Reddedildi

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMAN

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. Evrak sorgulaması için: <https://turkiye.gov.tr/ebd7eKc-53948eD-BSD4H7ZZ746eS-92990> adresinden yapılabilir.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Simay BOZKURT

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2021, İstanbul Kültür Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Bozkurt S., Akbaş F., Korkmaz N.D., Bilge B.N., Tak A.Y., Bayrakoğlu A., Uslu F.İ., Yücesan E.** (2023). Genetik jeneralize epilepside miRNA'ların genetik biyobelirteçler olarak değerlendirilmesi. *18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, 26-29 Ekim, Ankara, Türkiye.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Bulut M. M., Bozkurt S., Yabancı A., Yücesan E.** (2022). Tıp Fakültesi Öğrencilerinin Metabolik Sendrom Farkındalık Düzeylerinin İncelenmesi. *Acta Med Nicomedia*, 5(2), 56-60.