

Gebelik Sürecinde Rol Oynayan mikroRNA (miRNA)'lar

Özge Sidekli, Özgecan Korkmaz Ağaoğlu

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Burdur

Geliř Tarihi / Received: 12.02.2019, Kabul Tarihi / Accepted: 06.05.2019

Özet: MikroRNA (miRNA)'lar, çok hücreli organizmalarda mesajcı RNA (mRNA)'nın translasyonunu etkileyerek, gen ekspresyonunu postranskripsiyonel aşamada düzenleyen kısa, 17-25 nükleotid uzunluğunda, kodlama yapmayan küçük RNA molekülleridir. miRNA'lar, kendi nükleotid dizilerinin tamamlayıcısı olan hedef mRNA'lara bağlanıp gen ekspresyonunu baskılamakta veya tamamen ortadan kaldırmaktadır. Böylece; gen ekspresyonunun düzenlenmesini gerçekleştirmektedirler. miRNA'lar; hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması ve ölümü gibi süreçlerde oldukça önemli roller üstlenmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile birlikte miRNA'ların; gebeliğin oluşumu ve sürdürülebilmesi de dâhil olmak üzere anjiyogenezis, yangısal yanıt ve hipoksi gibi hücrel ve moleküler aktivite ile ilişkili genlerin kontrolünde önemli düzenleyici rollere sahip oldukları bildirilmiştir. Gebelik ile ilişkili miRNA'ların büyük bir kısmının reproduktif dokularda eksprese olduğu ortaya konmuştur. Gebelik süreci içinde miRNA biyogenezinin epigenetik etkilerinin moleküler düzeyde ortaya konması, gebeliğin mekanizmasının aydınlatılması açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır. Bu derlemede; gebelik sürecinde aktif rol alan miRNA'lar ve miRNA'ların bu fizyolojik sürece katkıları hakkında bilgiler özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: mikroRNA, gebelik, uterus, plasenta

MicroRNAs (miRNA) Play a Role During Pregnancy

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are short, 17-25 nucleotide long, non-coding RNA molecules that regulate gene expression during post-transcriptional level by affecting the translation of messenger RNAs (mRNAs) in multicellular organisms. miRNAs are inhibiting or degrading gene expression by binding to target mRNA which is complement of own nucleotide sequence. Thus, they regulate to gene expression. miRNAs play important roles in cellular processes such as proliferation, differentiation and apoptosis. miRNAs; It has been reported that they have important regulatory roles in the control of cellular and molecular activity related genes such as angiogenesis, inflammatory response and hypoxia, including the formation and maintenance of pregnancy in recent years. It has been shown that the majority of the miRNAs associated with pregnancy, expressed in reproductive tissue. Revealing the effects of the biogenesis of miRNAs molecularly during pregnancy has an important potential according to clarifying to mechanism of pregnancy.

Therefore, it has been summarized that information about the contribution of miRNAs and miRNAs that played active roles during pregnancy, to this physiological process in this review.

Key words: microRNA, pregnancy, uterine, placenta

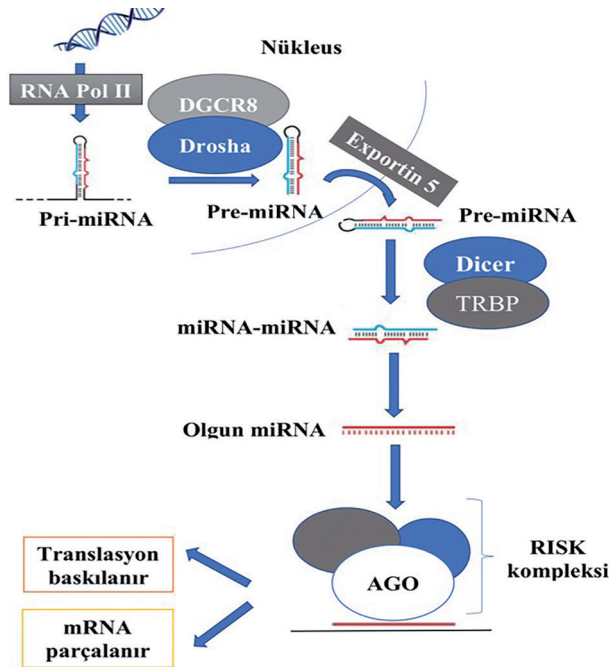
Giriř

Memeli genomunun büyük bir kısmı protein kodlamayan RNA (non-coding RNA; ncRNA)'lardan oluşmaktadır [4]. ncRNA sınıfı içerisinde yer alan mikroRNA'lar (miRNA), hayvanlar, bitkiler ve tek hücreli ökaryotik canlılarda gen ekspresyonunu postranskripsiyonel aşamada düzenleyen kısa (17-25 nükleotid; nt), tek iplikçikli RNA molekülleridir [24]. miRNA'lar, mesajcı RNA (mRNA)'nın 3'UTR veya 5'UTR bölgesine bağlanarak, ilgili genin ekspresyonunu baskılamakta veya tamamen ortadan kaldırmaktadır. Böylece çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar. Memelilerde hücrel gen ekspresyonunun %60'ından fazlasının miRNA'lar tarafından kontrol edildiği bildirilmektedir [44].

Gen ekspresyonunun büyük bir çoğunluğunun miRNA'lar tarafından kontrol ediliyor olması, bilimsel arenada konuya karşı bir ilgi duyulmasına neden olmuştur. miRNA'lar üzerine yapılan çalışmaların sayısının artması ile birlikte farklı genomik organizasyona sahip organizmalarda tanımlanan miRNA'ların sayısı da artmıştır. Son bildirilen verilere göre ise 2019 yılında miRbase veri tabanında; 271 farklı türe ait 38.589 miRNA lokusu ve 48.860 olgun miRNA tanımlanmıştır [35].

miRNA'lar, nükleusta uzun saç tokası (hairpin) yapısındaki primer miRNA (pri-miRNA)'lardan sentezlenmektedir. Nükleusta bulunan pri-miRNA; ribonükleaz, Drosha (RNAaz III enzim aile-

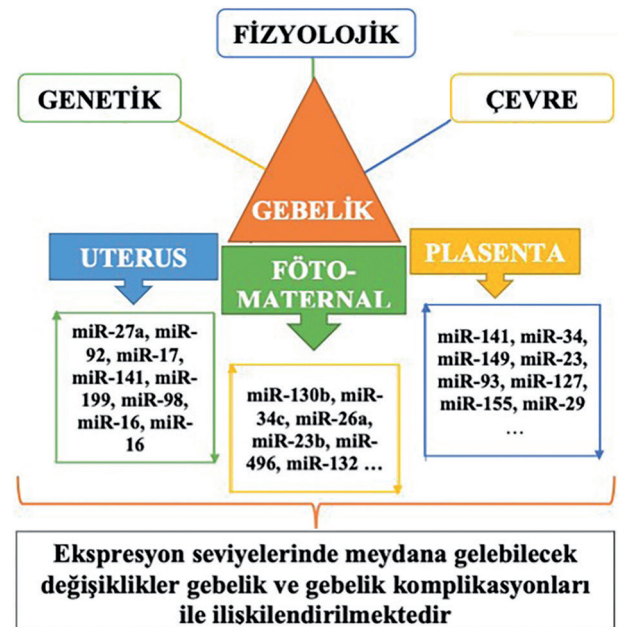
sine üye) ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DiGeorge critical region; DGCR8)'den oluşan mikro işlemci kompleksler tarafından kesilerek, ~70 nükleotid uzunluğundaki prekürsör miRNA'ları (pre-miRNA) oluşturmaktadır [44]. Oluşan pre-miRNA'lar; nükleus porlarından sitoplazmaya "Exportin-5-Ran-GTP" kompleksi tarafından taşınmaktadır. Sitoplazmaya taşınan pre-miRNA'lar, Dicer (RNAaz III enzim ailesine üye) enzimi tarafından katalize edilerek, ~20 nükleotid uzunluğunda olgun miRNA'ları içeren, çift zincirli RNA'ları (double-stranded RNA; dsRNA) oluşturmaktadır. dsRNA'lar; helikaz enzimi tarafından, tek zincirli RNA (single-stranded; ssRNA)'lara dönüştürülmektedir [65]. mRNA'nın hedeflenebilmesi için; Dicer, transaktivasyon yanıtı ile ilişkili RNA bağlayıcı protein (Transactivation-Response RNA binding Protein; TRBP) ve Argonate 2 (Argonaute; AGO2); RNA ile uyarılmış susturma kompleksini (RNA induced silencing complex; RISC) oluşturmaktadır [9]. ssRNA'nın da dâhil olduğu bu RISK kompleksi hücresel gen ekspresyonları üzerindeki fonksiyonlarını, tamamlayıcı benzer bir ipliğin hedef mRNA'ya bağlanmasıyla göstermektedir. Tamamlayıcı ipliğe, miRNA'nın benzerlik göstermesi durumunda mRNA parçalanmaktadır. Benzerliğin düşük olması durumunda ise mRNA'nın translasyonu (Şekil 1) baskılanmaktadır [9,24].



Şekil 1. miRNA'ların biyogenezisi.

Memelilerde hücresel gen ekspresyonunu kontrol eden miRNA'lar, hemen hemen bütün hücre tiplerinde; hücre gelişimi, proliferasyonu ve apoptozis başta olmak üzere çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol oynamaktadır [26]. miRNA'ların, yanğısal yanıtlarla ilişkili genlerin kontrolü ve immun sistemde yer alan hücrelerin düzenlenmesi de dâhil olmak üzere, gebeliğin oluşumu ve gebeliğin sürdürülmesi ile ilişkili süreçlerde de rol oynadığı bildirilmektedir [7].

Sağlıklı bir gebelik süreci embriyo, uterus ve plasentanın hücresel ve moleküler düzeyde birbirleriyle olan eş zamanlı etkileşimlerine bağlıdır [4]. Gebelik boyunca fötüs ile anne arasındaki besin ve gaz alışverişini sağlayan placentaya; histolojik yönden incelendiğinde trofoblast, endotelial, desidual (plasentalarında desidua bulunmayan inek, koyun, keçi, kısırak ve domuz türleri hariç) ve mezensimal hücrelerden oluşmaktadır. Plasentada yer alan bu hücrelerin; proliferasyonu, farklılaşması ve invazyonunun yanında desidualizasyon ve anjiyogenezis gibi hücresel aktiviteleri sağlıklı bir gebelik süreci için oldukça önemlidir [67]. Yapılan çalışmalarda; gebelik sürecinin, genetik, çevresel ve fizyolojik faktörler tarafından kontrol edildiği ortaya konmuştur [29, 61, 76]. Öyle ki; gebelik sürecinde rol oynayan bu faktörlerin belirli bir denge içerisinde bulunmasında miRNA'ların rol oynadığı bildirilmektedir (Şekil 2) [38, 42].



Şekil 2. Gebelik sürecini düzenleyen faktörler

Bu derlemede; gebelik sürecinde aktif rol alan miRNA'ların ve miRNA'ların bu fizyolojik sürece katkıları hakkında bilgileri özetlenmiştir.

Gebeliğin düzenlenmesinde miRNA'lar

miRNA'ların; gebelik ile ilişkili önemli bir organ olan uterusu endometriyal prereseptivite (embriyonun anne tarafından kabul edilmişinden önceki), reseptivite (embriyonun anne tarafından kabul edildiği sırasındaki) ve non-reseptivite (embriyonun anne tarafından kabul edilmesinin olmadığı) evrelerini içeren implantasyon dönemlerinin oluşumunda, ayrıca gebelik için geçici bir organ olan plasentanın gelişiminde önemli rol oynadıkları bildirilmektedir [7, 72]. miRNA'ların gebeliğin düzenlenmesindeki rolü ilk olarak Dicer enziminden yoksun fare doku modelinde gösterilmiştir. Dicer enziminden yoksun farelerde, uterus ve ovidukt hücrelerinde hipotrofinin şekillendiği [25]; Dicer enziminin bulunmadığı insan endometriyal stroma hücrelerinde (endometrial stroma cells; ESCs) ise desidualizasyon sürecinin aksadığı bildirilmiştir [27]. İnsanlarda yapılan başka bir çalışmada da desidualizasyon sürecinde eksprese olan miRNA'ların (miR-222, 221, 181b, 27b, 29b, 207, 143, 101, 30d, 30c ve 23a), ESC'nin farklılaşmasında başlatıcı role sahip oldukları ve Dicer enzimi tarafından ekspresyon profillerinin düzenlendiği ortaya konmuştur [55].

Fertilizasyon sürecinden başlayarak, gebeliğin çeşitli dönemlerinde rol oynayan çok sayıda miRNA belirlenmiştir [12, 55, 75]. Tanımlanan miRNA'ların bir kısmının dokuya spesifik olarak; büyük bir kısmının ise hücre dışı ortamda; dolaşım ve anne sütü, tükürük, semen gibi biyolojik sıvılarda ekspresyonlarına rastlanmıştır [53]. Hücre dışı miRNA'lar kararlı bir formda bulunarak, endojen RNAaz'dan kendilerini korumaktadır. Dokuya spesifik miRNA'lar; sentezlendikleri dokularda bulunmakta ve ekzozomlar ile dolaşım sistemine geçebilmektedirler. Dolaşımında bulunan miRNA'lar ise diğer hücre/doku tiplerine parakrin veya telektrin yol ile geçerek, hedefledikleri gen bölgelerini düzenlemektedirler [5, 56]. Bazı miRNA'ların lokalize oldukları dokudan, diğer hücre/doku tiplerine geçişlerinde, ekspresyon düzeylerinin değişebileceği ortaya konmuştur [20,55, 60].

Gebelik sürecinin düzenlenmesinde rol oynayan uterus ile ilişkili miRNA'lar

Uterus, reproduktif süreçte yapısal değişikliklere uğrayan dinamik bir organdır. Gebelik boyunca uterus kaynaklı miRNA'ların işlevleri kısmen ortaya çıkarılmış olmasına rağmen gebelik, menstrüel siklus veya östrus siklusu boyunca uterusu hücre ve moleküler olayların doğrudan ve dolaylı olarak miRNA'lar tarafından düzenlendiği bildirilmektedir [4, 55, 75]. Örneğin; Quin ve ark., (2009) yapmış oldukları bir çalışmada; ESC'de, 49 farklı miRNA'nın eksprese olduğunu saptamışlardır. Bu miRNA'lar içerisinde miR-222'nin ESC farklılaşmasını siklin bağımlı kinaz (cyclin dependent kinase; Cdk) 'ları hedefleyerek doğrudan düzenlediğini belirlemişlerdir. miRNA'ların, ESC proliferasyonu ve farklılaşmasında ayrıca desidualizasyon ile ilişkili genlerin (FOXO1A, PRL, IGFB-1, DCN, TIMP3 gibi) düzenlenmesinde de etkili rol oynadıkları bildirilmektedir [75]. Endometriyumda eksprese olan miRNA'ların (miR-21, miR-18a, miR-181a, miR-206, miR-133 ve miR-142-5p gibi); östrojen (E2), progesteron (P4), transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor-β; TGF-β), matris metalloproteinaz-2 (Matrix Metalloproteinase-2; MMP-2) ve matris metalloproteinaz-9 (Matrix Metalloproteinase-9; MMP-9) gibi gen bölgelerini düzenleyerek endometriyal hücre aktivitede kritik rollere sahip oldukları bildirilmektedir (Tablo 1) [9, 12, 39].

Cinsiyet hormonlarının, miRNA ekspresyon profili üzerinde doğrudan düzenleyici rollere sahip oldukları ortaya konmuştur [6]. Ovariectomi yapılmış fareler üzerine yapılan bir çalışmada; ekzojen E2 uygulamaları sonucu miR-705'in ekspresyon seviyesinin arttığı belirlenmiştir. miR-705'in; MMP-9'u hedefleyerek anjiyogenez sürecini düzenlediği bildirilmiştir [6]. Yapılan bir çalışmada, fare uterusuna ekzojen E2 uygulanması sonucunda; miR-451, miR-429, miR-99b, miR-155 ve miR-7a'nın ekspresyon seviyelerinin arttığı, buna rağmen bazı miRNA (miR-24 ve miR-181b)'ların ekspresyon seviyelerinin ise azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada E2 reseptör antagonistlerinin uygulanması sonucunda ise; miR-24 ve miR-181b'nin ekspresyon seviyelerinin arttığı bildirilmiştir [51]. E2 ve P4 steroidlerinin kombine uygulamaları sonucunda ise; Exportin-5, Dicer ve Drosha enzimlerinin

ekspresyon seviyelerinin arttığı; E2 ve P4 reseptör enzimlerin ekspresyon seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir [52].

Tablo 1. Gebelik sürecinin düzenlenmesinde rol oynayan uterus ile ilişkili miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili görevi
Let-7 ailesi ve miR-199	NF-κB sinyal yolunu ve Il-6'yı, ayrıca ESC proliferasyonunu ve MUC-1 ekspresyonunu düzenlemektedirler [8, 28].
miR-222, 221, 181b, 27b, 29b, 207, 143, 101, 30d, 30c ve 23a	Desidualizasyon sürecinde rol oynadıkları bildirilmektedir [55, 75].
miR-92, miR-17 ve miR-27, miR-101, miR-137 ve miR-155	Trofoblast hücre proliferasyonu ve invazyonunu, ayrıca anjiyogenezis sürecini düzenlemektedirler [42, 61, 66].
miR-141 ve miR-424	Gebelik yaşının ilerlemesiyle birlikte ekspresyonları artmaktadır. Tümör patogeneziinde rol aldıkları bildirilmektedir [49, 50].
mmu-miR-101a ve mmu-miR-199a	İmplantasyon sürecinde ilgili genlerin ekspresyonunu düzenlemektedirler [7].
miR-21, miR-18a, miR-181a, miR-206, miR-133 ve miR-1425p	TGF-β, MMP-2 ve MMP-9 gibi genlerin ekspresyonlarını düzenleyerek; endometriyal hücrel aktivitede kritik rollere sahip oldukları bildirilmektedir [9, 12].
miR-705	MMP-9'un ekspresyonunu düzenlediği bildirilmektedir [6].
miR-431, miR-449a ve miR-182 ve miR-216a, miR-199a, miR-143, miR-29a, miR-21, miR-16 ve miR-195, miR-98, miR-10a, miR-352 ve miR-126, hsa-miR-30b, hsa-miR-30d, hsa-miR-494	İmplantasyon dönemlerinin oluşumuna katıldıkları bildirilmektedir [2, 60, 72].
Mmu-miR-96	Bcl-2'yi hedefleyerek, stroma ve desidua hücrelerinde apoptozisi düzenlediği ortaya konmuştur [73].
miR-451, miR-429, miR-99b, miR-155, miR-7a ve Let-7a	E2 varlığında uterus endometriyal hücre farklılaşmasında rol oynamaktadırlar [40, 51].

Fare embriyosunun uterusu uzun süre P4'e maruz kalması durumunda metabolik faaliyetleri durmakta ve pasif hale geçmektedir [4]. Liu ve ark., (2012b) pasif ve aktif fare embriyolarında miRNA ekspresyon profillerinin farklı olduğunu saptamışlardır. E2 uygulaması sonrası aktif hale gelen fare embriyolarında, Let-7 ailesine üye miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca; Let-7a'nın integrin beta 3'ü hedefleyerek, uterusu implantasyon alanlarını azalttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde Let-7 ailesinin diğer bir üyesi olan Let-7b, preimplantasyon evresinde uterus epitel ve stroma hücre proliferasyon bölgelerinde belirlenmiştir [21].

Embriyonun, endometriyuma implantasyonu ve desidualizasyonun şekillenmesinde prostaglandin-endoperoxid sentetazın (Prostaglandin Endoperoxide Synthase 2; Ptg2) önemli bir işleve sahip olduğu ve miRNA'lar tarafından ekspresyonunun düzenlendiği saptanmıştır [6]. Farelerde P4'ün hâkim olduğu endometriyumun reseptiv döneminde,

Ptg2'yi hedef alan miR-101a ve miR-199a'nın ekspresyon seviyelerinin, E2'nin hâkim olduğu endometriyumun preresseptiv dönemine göre arttığı belirlenmiştir [7]. İnsanlarda uterus endometriyumunun reseptiv ve preresseptiv olduğu dönemler karşılaştırıldığında; reseptiv dönemde hsa-miR-30b ve hsa-miR-30d'nin ekspresyon seviyelerinin arttığı; buna rağmen hsa-miR-494'ün ekspresyon seviyesinin ise azaldığı saptanmıştır [2]. Song ve ark., (2015) keçilerde uterusun reseptiv olduğu dönemde miR-431, miR-449a ve miR-182; preresseptiv olduğu dönemde ise miR-216a'nın ekspresyon seviyelerinin arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca endometriyumun reseptiv olduğu dönemde ekspresyon seviyesinde artış belirlenen miR-449'un, p53 geninin aktivasyonuna katkı olarak apoptozis sürecini düzenlediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde uterusu, Mmu-miR-96'nın anti-apoptotik faktör olan Bcl-2'yi hedefleyerek stroma ve desidua hücrelerinde apoptozisi düzenlediği ortaya konmuştur [73]. Xia ve ark., (2014) yapmış oldukları bir çalışmada; ratlarda reseptiv dönemde

miR-199a, miR-143, miR-29a, miR-21, miR-16 ve miR-195'in ekspresyonlarının arttığını; miR-98, miR-10a, miR-352 ve miR-126'nın ekspresyonlarının ise azaldığını saptamışlardır. Aynı çalışmada; ekzojen olarak E2 uygulaması sonucunda da benzer sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Föto-maternal etkileşimde rol oynayan miRNA'lar

Gebeliğin oluşabilmesi ve sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için fetal ve maternal etkileşimin fizyolojik koşullar altında gerçekleşmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda; miRNA'ların föto-maternal etkileşimlerin gerçekleşmesinde düzenleyici rolere sahip oldukları bildirilmektedir (Tablo 2) [28, 33, 59]. Ovumun fertilizasyonu ile oluşan zigotta,

maternal kaynaklı Dicer enziminin eksikliği sonucunda hücre bölünmelerinin şekillenmediği belirlenmiştir [64]. Yuan ve ark., (2016) ise; miRNA profili değiştirilmiş, Drosha enziminin yokluğu sperm kullanılarak elde ettikleri fare blastosistlerinde gelişim geriliğinin şekillendiğini saptamışlardır. Bununla birlikte farelerde paternal kaynaklı miR-34c'nin mitotik bölünmelerin şekillenmesinde başlatıcı role sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sığırlarda embriyogenezin morula ve blastosist evrelerinde miR-130b'nin ekspresyon profilinin, gebeliğin ilerleyen dönemlerine kıyasla daha yüksek seviyede seyrettiği ve miR-130b ekspresyonunun baskılanması durumunda; morula ve blastosist gelişiminin engellendiği belirlenmiştir [59].

Tablo 2. Föto-maternal etkileşimde rol oynayan miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili fonksiyonları
Dicer	Zigot hücrelerinde bölünmelerin şekillenebilmesi için gerekli olduğu bildirilmiştir (64)
miR-130b	Sığırlarda embriyogenezisi düzenlediği bildirilmektedir [59].
miR-34c	Birinci meridyonel bölünmenin şekillenmesinde başlatıcı role sahip olduğu bildirilmektedir [74].
miR-26a	Sığırlarda maternal kabul sürecinde rol oynadığı düşünülmektedir [29].
miR-26a, miR23b ve miR-125b	Domuzlarda gebeliğin erken döneminde ekspresyon seviyelerinin arttığı bildirilmiştir [56].
miR-496 ve miR-125a	Sığırlarda föto-maternal etkileşimlerde rol oynayan genlerin düzenledikleri bildirilmektedir [65].
miR-132 ve miR-212	hCG ekspresyonunu düzenledikleri ortaya konmuştur [17].
miR-661	İnsanlarda föto-maternal etkileşim için kritik bir bileşen olduğu bildirilmiştir [11].
miR-10a, miR-27a, miR-29c, miR-323, miR-331-5p, miR-374b-5p ve miR-935	Domuzlarda föto-maternal etkileşim için gerekli olduğu ve erken embriyonik ölümler ile ilişkili oldukları bildirilmiştir [70]
miR-27a, miR-29c, miR-30c, miR-323-5p, miR-486-5p, miR-653, miR-767-5p, miR-874, miR-101, miR-140-3p, miR-188-5p, miR-195	Kısıraklarda föto-maternal etkileşimlerde rol oynadıkları bildirilmiştir [33].
miR-150, miR-17-5p, miR-18a, miR-19a, miR-296-5p, miR-26a, miR-148a ve miR-152	İmmün toleransta rol oynamaktadırlar [4, 29, 41].

P4 ve E2 ile uyarılmış olan uterusun luminal epitel katmanına embriyonun implantasyonu için gerekli olan embriyonik sinyallerin oluşumunda da miRNA'ların rol oynadığı bildirilmektedir [29, 56]. Örneğin; insanlarda gebelik için bir biyobiyo-belirteç olan insan koryonik gonodotropin (human chorionic gonadotropin; hCG) ekspresyonunun, miR-132 ve miR-212 tarafından düzenlendiği ve farelerde hCG uygulamaları sonucunda miR-132 ve

miR-212 ekspresyon seviyelerinin arttığı saptanmıştır [17]. Erken gebelik dönemine ilişkin yapılan başka bir çalışmada ise sığırlarda; gebeliğin 16-24. günleri arasında dolaşımda saptanan miR-26a'nın ekspresyon seviyesinin, östrus siklusunun benzer günlerine oranla anlamlı bir artış sergilediği bildirilmiştir [29]. Wessels ve ark., (2013) domuzlar üzerine yapmış oldukları bir çalışmada; embriyonun, endometriyuma implantasyonunun gerçekleşecek

olduğu alanlarda bazı miRNA'ların (miR-10a, miR-27a, miR-29c, miR-323, miR-331-5p, miR-374b-5p ve miR-935) ekspresyon seviyelerinde artış saptanmıştır. Bu miRNA'ların, domuzlarda gözlenen erken embriyonik ölümler ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Reliszko ve ark., (2017); domuzlarda gebeliğin 16. günü miR-26a, miR23b ve miR-125b ekspresyonlarının; östrus siklusunun 16. gününe göre anlamlı bir artış sergilediğini bildirmişlerdir. Fizyolojik süreç içerisinde bu üç miRNA'nın maternal kabul sürecinde çeşitli büyüme faktörü ve sitokinlerin ekspresyonunu da doğrudan ve/veya dolaylı olarak düzenlediği düşünülmektedir. Kısırlıklarda da gebeliğin erken dönemine (11-13. günlerine) spesifik 12 farklı miRNA ekspresyonuna rastlanılmış ve bu miRNA'ların adezyon moleküllerini hedef alarak fonksiyon gösterdikleri belirlenmiştir [33]. İnsanlarda, embriyo ile endometriyum arasındaki etkileşimlerde miR-661'in kritik bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmanın sonucunda; miR-661'in, AGO1 tarafından taşındığı ve artan ekspresyonu sonucunda, immunglobulin benzeri hücre adezyon molekülü olan PVRL-1'in işlevini engellediği belirlenmiştir [11].

Bazı miRNA'lar (miR-150, miR-17-5p, miR-18a, miR-19a ve miR-296-5p) immun toleransla ilişkili genlerin ekspresyonunu da düzenlemektedir [4]. Yapılan bir çalışmada; miR-26a'nın maternal immun tolerans ile ilişkili olduğu, erken gebelik döneminde bazı sitokinlerin ekspresyonlarını baskıladığı bildirilmiştir [29]. İnsanlarda yapılan başka bir çalışmada da gebelik boyunca ekstrasvillöz trofoblastlarda eksprese olan hLA-G'nin, miR-148a ve miR-152 tarafından ekspresyonlarının baskılandığı ve bu miRNA'ların immun yanıtın düzenlenmesinde kritik bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir [41]. Dicer enziminden yoksun olan farelerde ise hücrel ve humoral yanıtta görev alan B ve T hücrelerinin farklılaşma sürecinin aksadığı bildirilmiştir [4].

Gebelik sürecini düzenlenmesinde rol oynayan plasental miRNA'lar

Plasenta; fötüs ile anne arasındaki ilişkinin kurulmasını sağlayan önemli bir organdır [47]. Gebelik boyunca plasentaya spesifik, plasenta ile ilişkili ve plasenta kaynaklı miRNA'lar, anne ve fötüs arasındaki global gen ekspresyonunun kontrolünde önem-

li rol oynamaktadırlar [20]. Yapılan çalışmalar ile birlikte plasentaya spesifik ve ilişkili miRNA'ların, gebelik ve gebelik komplikasyonlarının kontrolünde düzenleyici rollere sahip oldukları ortaya konmuştur [13, 18, 77]. Plasenta dokusundan eksprese edilen, miR-141 [47] ve miR-519d-3p [13]'nin trofoblast hücre proliferasyonu, invazyonu, migrasyonu ve hücreler arası iletişimi düzenlediği; miR-675'in ise embriyonik ve ekstraembriyonik hücre proliferasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir [31].

Gebelik boyunca plasenta dokusundan eksprese olduğu belirlenen miRNA'ların büyük bir çoğunluğunun, kromozomlar üzerinde birbirine yakın kümeler halinde lokalize oldukları belirlenmiştir [5, 53]. Plasentaya spesifik miRNA'lar ile ilgili yapılan çalışmalarda primatlara spesifik, 19. kromozom üzerinde konumlanan C19MC kümesi saptanmıştır. C19MC kümesine üye miRNA'ların ekspresyonları, reproduktif organlar ile sınırlı [46] olmasına rağmen; 20 haftalık fetal beyinde C19MC kümesine üye, miR-498'in eksprese olduğunu saptamışlardır [18]. Genomik DNA'nın yaklaşık 100kb alanında 46 farklı gen bölgesi içerdiği saptanan C19MC kümesine üye miRNA'ların, gebeliğin çeşitli dönemlerin de plasentada ekspresyon profillerinin değiştiği bildirilmiştir [46, 53]. Plasentaya spesifik miRNA'lar üzerine yapılan çalışmalarda 14. kromozom bölgesinde bulunan C14MC ve yine 19. kromozom üzerinde yer alan miR-371-3 kümesi de belirlenmiştir. C14MC kümesinde, kromozomun yaklaşık 40kb alanında 52 farklı miRNA geni bulunduğu belirlenmiş ve bu miRNA kümesinin embriyo ve plasental dokunun gelişiminde rol oynadığı ortaya konmuştur. miRNA-371-3 kümesinin ise 3 farklı üyesinin bulunduğu ve yalnızca plasentadan eksprese olduğu, ayrıca miRNA-371-3'ün, plasental hücre farklılaşması ve apoptosiz süreçlerinin önemli düzenleyicisi olduğu bildirilmektedir [46, 48].

Kotlabova ve ark., (2011) insanlarda plasentaya spesifik miRNA'ları belirlemek amacıyla, 16 farklı miRNA (miR-512-5p, miR-515-5p, miR-224, miR-516-5p, miR-517, miR-136, miR-518f, miR-519a, miR-519d, miR-519e, miR-520a, miR-520h, miR-524-5p, miR-525, miR-526a ve miR-526b)'nin ekspresyon profillerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 7 farklı plasental miRNA (miR-516-5p, miR-517, miR-518b, miR-520a, miR-520h, miR-525 ve miR-526a)'nın gebelik süreci ile ilişkili bir biyo-

biyobelirteç olarak kullanım alanının olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca C19MC kümesine üye miRNA'ların (miR-520 ve miR-517c), plasentadaki mezozimal hücrelerde de eksprese olduğu saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada da plasental gelişim

ile ilişkili olan C19MC kümesine üye miR-515-3p, miR-517a, miR-517c ve miR-518b'nin neonatal doğum ağırlığı ve gebelik sürecinde maternal vücut kitle indeksi ile de ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Tablo 3) [45].

Tablo 3. Gebelik sürecinin düzenlenmesinde rol oynayan plasentaya spesifik miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili fonksiyonları
C19MC kümesi	Projenitör hücrelerin potansiyel düzenleyicileridirler. Trofoblast hücre proliferasyonu, invazyonu ve migrasyonunu düzenlemektedirler [18, 46].
C14MC kümesi	Plasentaya özgü genlerin ekspresyonlarını ve embriyo gelişimini düzenlemektedirler [46].
miR-371-3 kümesi	Plasental hücre farklılaşması ve apoptozis süreçlerinin kontrolünde ve preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarında ekspresyon seviyeleri artmaktadır (4, 46).
miR-23a, miR-136, miR-675, miR-141, miR-1302 ailesi ve miR-516~526 kümesi	Plasenta gelişimi ve trofoblast hücre farklılaşmasını düzenlemektedirler. [5, 13, 34].
miR-515-3p, miR-517a, miR-517c ve miR-518b	Plasenta gelişimi ve hacim artışı ile ilişkili oldukları bildirilmiştir [45].
miR141, miR-519d-3p, miR-149, miR-299-5p ve miR-135p	Trofoblast proliferasyonu, invazyonu, migrasyonunu düzenlemektedirler. Ayrıca doğum öncesi dönemde ekspresyonlarının arttığı bildirilmiştir [10]

Plasenta ile ilişkili miRNA'ların; gebelik süreci boyunca ekspresyon profillerinin değiştiği belirlenmiştir [43, 48]. Yapılan bir çalışmada; trofoblast hücrelerindeki C19MC kümesine üye bazı miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin gebeliğin birinci ve üçüncü dönemlerinde önemli ölçüde arttığı; buna rağmen C14MC kümesine üye bazı miRNA'ların ise ekspresyon seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Gebeliğin birinci ve üçüncü dönemlerinde miR-371-3 kümesine üye miRNA'ların ekspresyon seviyelerinde de küçük bir artış olduğu gözlenmiştir [48]. Yapılan bir çalışmada; miR-378a-5p'nin gebeliğin birinci ve ikinci dönemlerinde, miR-376c2'nin ise gebeliğin üçüncü döneminde ekspresyon seviyesinin arttığını saptamışlardır [43]. miRNA'ların ekspresyon seviyelerinde gözlenen bu değişiklikler; gebelik ile ilişkili bir biyobiyobelirteç olarak kullanım alanlarının olabileceğini düşündürmektedir [20, 43].

Maternal dolaşımda belirlenen miRNA'ların, organizmanın gebeliğe adaptasyonunda önemli rol oynadıkları bildirilmektedir (Tablo 4) [10, 29, 38]. Sığırlarda gebeliğin erken döneminde miR-26a'nın maternal immun toleransın düzenlenmesinde kritik bir öneme sahip olduğu ve gebeliğin erken dönemi için bir biyobiyobelirteç olarak kullanılabilmesi be-

lirlenmiştir [29]. Gebelikte maternal plazmada belirlenen plasental miRNA'lardan miR-141, miR-149, miR-299-5p ve miR-135b'nin doğum sonrası ekspresyon seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca bu miRNA'lar içerisinde miR-141 ve miR-149'un ekspresyon seviyelerinin gebe olmayan kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir [10]. Williams ve ark., (2013) dolaşımda bulunan plasentaya spesifik miRNA profilini ortaya çıkartmışlardır. Dolaşımda plasentaya spesifik miR-498 (46 farklı miRNA), miR-127 (8 farklı miRNA) ve miR-134 (41 farklı miRNA)'ün C19MC ve C14MC küme aralığı içinde bulunduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada gebe olan kadınlarda; maternal ve fetal dolaşımdaki miRNA kümelerinin ekspresyon profilinin değiştiği saptanmıştır. Dolaşımda bulunan bazı miRNA (miR-141 ve miR-140 gibi)'ların ekspresyon seviyeleri, gebeliğin ilerlemesiyle birlikte artmaktadır. Bu nedenle, biyobiyobelirteç olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir [46]. Hosseini ve ark.,(2018) insanlarda yapmış oldukları bir çalışmada hsa-miR-125a-3p, hsa-miR-3663-3p, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-575, hsa-let-7c ve hsa-miR-122'nin erken embriyonik kayıpların patogenezinde rol aldığını bildirmişlerdir.

Fizyopatolojik durumlarda miRNA'ların ekspresyon analizi için uygun referans genlerin kullanılması gerekmektedir [14]. Dini ve ark., (2018) gebe ve diöstrus döneminde bulunan kısraklar üzerine yapmış oldukları bir çalışmada; koryoallantoik membrana (chorioallantoic membrane; CAM) özgü

miRNA ekspresyonlarının normalizasyonu için en kararlı referans genlerin eca-miR-8908a-1-5p, eca-miR-369-5p ve eca-miR-106a-5p olduğunu bildirmişlerdir. Sığırlarda yapılan benzer bir çalışmada da miR-93 ve miR-127'nin en kararlı referans genler olduğu saptanmıştır [3].

Tablo 4. Gebelik sürecinin düzenlenmesinde rol oynayan plasenta kaynaklı dolaşımda bulunan miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili fonksiyonu
miR-26	Gebelik erken döneminde, bazı sitokinlerin ekspresyonlarını baskılayarak immün yanıtın düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir [29, 56].
C14MC kümesi	Kadınlarda gebelik sürecinde dolaşımda tanımlanmıştır [71].
C19MC kümesi	Plasentaya spesifik olan miRNA kümesi; erken gebelik döneminde dolaşımda ekspresyonlarının arttığı bildirilmiştir [34, 45].
Hsa-miR-125a-3p, hsa-miR-3663-3p, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-575, hsa-let-7c ve hsa-miR-122	İnsanlarda erken embriyonik ölümlerin patogeneğinde rol oynadığı bildirilmiştir [26].
miR-371-3	Preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarında biyobiyobelirteç olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir [46].
miR-127, miR-134 ve miR-498 kümesi	Maternal ve fetal dolaşımda saptanmışlardır [71].
miR-141, miR-149, miR-299-5p ve miR-135b, miR-424	Gebelik yaşının ilerlemesiyle birlikte ekspresyonları artmaktadır. [10].
miR-185	İneklerde RS'nin patogeneğinde rol oynayabileceği bildirmiştir [77].
eca-miR-8908a-1-5p, eca-miR-369-5p ve eca-miR-106a-5p	Kısraklarda miRNA ekspresyonlarının normalizasyonu için kullanılabilirliği bildirilmiştir [14].
miR-93 ve miR-127	Sığırlarda miRNA ekspresyonlarının normalizasyonu için kullanılabilirliği bildirilmiştir [3].

Gebelik sürecinde yangı ve hipoksi ile ilişkili miRNA'lar

Gebelikte yangısal olayların ve hipoksinin şekillendiği plasenta ve uterus ortamında miRNA ekspresyon profili değişebilmektedir [30]. Hipoksik uterus ortamının, plasental gelişim ve plasental doku ile ilişkili miRNA (miR-93, miR-205, miR-224, miR-335, miR-451 ve miR-491)'ların ekspresyonu için gerekli olduğu bildirilmektedir (Tablo 5) [49].

Hipoksik koşullar altında oksijen hemostazisini düzenleyen hipoksi ile indüklenebilir faktörler (Hypoxia Inducible Factors; HIFs), anjiyogenezin kontrolünde önemli rol oynamaktadır [58]. Örneğin; Ağaoğlu ve ark., (2015) HIF-1α'nın; kedilerde vasküler endotelial büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor; VEGF)'nü uyararak gebelik sürecine katıldığını bildirmişlerdir. Gebelik sürecine VEGF gen ekspresyonunu uyararak katılan miRNA'ların; RNA interferans aracılığı ile HIF-1α sinyal yollarını düzenledikleri ortaya kon-

muştur [58]. Plasenta ile ilişkili hipoksiye duyarlı olan miRNA-210, HIF-1α geninin intronik bölgesinde yer almaktadır. Trofoblast hücreleri de dâhil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde, hipoksi şekillenen in-vitro ortamda, miR-210'un ekspresyon seviyesinde hızlı bir şekilde artış olduğu ve VEGF'yi uyardığı saptanmıştır [30]. Hipoksiye yanıt olarak oluşan miRNA ekspresyon seviyelerindeki değişikliklerin, miRNA'ların transkripsiyonel regülasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir [16, 20]. HIF-1α, miR-210'un promotor bölgesine doğrudan bağlanarak, miR-210 ekspresyonunun uyarılmasına neden olmaktadır. Buna karşılık miR-210, gliserol-3-fosfat benzeri dehidrojenaz-1 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like; GPD1L) enzimini hedefleyerek HIF-1α'yı stabilize etmektedir. GPD1L'de HIF-1α'nın hiperhidroksilasyonuna neden olarak, HIF-1α stabilitesini azaltan bir enzimdir [30].

Gebelik sürecinde tümör nekroz edici faktör- α (Tumor necrosis factor alpha; TNF-α) ve nükleer

faktör kappa B (Nuklear factor kappa B; NF- κ B) gibi yangısal yanıtı aracılık eden mediyatörlerin bazı miRNA (miR-17-5p, miR-20a, miR-106a, miR-125b, miR-146 ve miR-155)'lar tarafından ekspresyonunun düzenlendiği bildirilmiştir [19, 66]. Yapılan bir çalışmada miR-146'nın TNF- α ve interlökin-6 (Interleukin-6; IL-6) ekspresyonunu sınırlandırdığı bildirilmiştir [63]. Plasenta ve amnion sıvısında, yangı ile ilişkili olarak Let-7 ailesine üye miRNA'ların ekspresyonuna rastlanmıştır [8]. Let-7, NF- κ B sinyal yolunu ve IL-6 ekspresyonunu negatif yönde düzenlemektedir. Benzer şekilde miR-181a, TGF- β sinyal yolunun aktivasyonunu bloke ederek IL-6 ekspresyonunu arttırmaktadır. Böylece miR-181a'nın ekspresyonunun artması ile mezenşimal kök hücrelerinin immun baskılayıcı etkisi zayıflamaktadır. Bu durum, gebelik ile ilişkili kompli-

kasyonların oluşumuna zemin hazırlamaktadır [39]. Gebelik sürecinde yangısal yanıtın ve apoptozisin sınırlandırılarak hücre farklılaşmasının kontrol edilmesinde miR-17-5p, miR-20a ve miR-106a'nın önemli düzenleyici rollere sahip olduğu bildirilmiştir [19]. Diğer taraftan miR-148/152 ailesi ise, sağlıklı bir gebelik süreci için immun toleransa aracılık eden düzenleyici elemanların işlevlerini; negatif yönde düzenlemektedir [41]. Preimplantasyon döneminde yangısal yanıtı düzenleyici rollere sahip uterusu spesifik miRNA'ların embriyonik ya da fetal kayıplarla ilişkili olduğu düşünülmektedir [33]. Yapılan bir çalışmada farelerde vasküler düz kas hücrelerine özgü Dcr-8'in embriyonik gelişim için önemli olduğu, eksikliğinde erken embriyonik kayıpların şekillenebileceği bildirilmiştir [54].

Tablo 5. Gebelikte değişen yangı ve hipoksi ile ilişkili miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili fonksiyonu
miRNA-210	HIF-1 α ekspresyonunu ve anjiogenez sürecinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır [20, 30].
miR-17-5p, miR-20a, miR-106a, miR-125b, miR-146 ve miR-155	TNF- α ve NF- κ B gibi yangısal yanıtı aracılık eden mediyatörlerin ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir [19, 66].
Dcr-8	Vaskülogenez için gerekli olduğu ve eksikliğinde erken embriyonik ölümlerin şekillenebildiği ortaya konmuştur [54].
miR-125b ve miR-155	Yangı ile ilişkili hücrelerin proliferasyonundan sorumlu oldukları bildirilmiştir [66].
miR-146, Let-7, miR-181a	TNF- α ve IL-6 ekspresyonu ve NF-B sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynadıkları ortaya konmuştur [8, 63, 39]
miR-148/152 ailesi	İmmun toleransta rol oynayan hücrelerin ekspresyonunu düzenlemektedir [41]

Gebeliğin düzenlenmesinde hücrel aktivite ile ilişkili miRNA'lar

Gebelik ile ilişkili miRNA'ların, hücre proliferasyonu, apoptozis, invazyon ve anjiogenez üzerinde önemli düzenleyici rollere sahip oldukları ortaya konmuştur (Tablo 6) [23, 43, 61]. Örneğin; trofoblast hücre proliferasyonu ve migrasyonunun düzenlenmesinde plasenta ile ilişkili miR-378a-5p'nin ekspresyon seviyesinin arttığı bildirilmiştir [43]. Plasenta ile ilişkili olarak belirlenen bir diğer miRNA ise miR-29b'dir. miRNA-29b apoptozis, anjiogenez ve trofoblast invazyonunu düzenlemektedir. Ayrıca miR-29b miyeloid lösemi hücre farklılaşmasının yanı sıra MMP-2, VEGF ve integrin beta1 (ITGB) genlerinin ekspresyonlarının düzenlenmesinde de rol oynamaktadır [36]. Trofoblast hücre proliferasyonu, invazyonunu ve anjiogenezisi dü-

zenleyen; miR-424 [50], miR-101 [78], miR-18a [4] ve miR-137 [42], miR-335 [20], miR-155 [37], miR-185 [77], miR-27 [61] gibi miRNA'ların endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve/veya vasküler endotelial büyüme faktör reseptörü 1 (sVEGFR-1 veya sFlt-1)'i hedefleyerek fonksiyon gösterdikleri bildirilmiştir. Bazı miRNA (miR-210, miR-34a ve miR-29b)'ların trofoblast hücre invazyonunu; homeobox, emmprin, integrin ve MMP-2'yi hedef olarak engellediği belirlenmiştir [20, 36]. Bu nedenle miRNA'ların trofoblast hücre proliferasyonu ve invazyonunu olumlu ve olumsuz yönde düzenleyici etkilere sahip oldukları düşünülmektedir [4, 16, 23].

Gebelik boyunca meydana gelen bir diğer kritik fizyolojik olay da anjiogenezdir [4]. miRNA'lar, anjiogenezin düzenlenmesinde hem pro hem de anti anjiogenik mRNA'ların hedeflenebil-

diği fizyolojik ve patolojik durumlarda fonksiyon göstermektedirler [5]. En yaygın olarak çalışılan pro-angiogenik faktör VEGF'dir. Bazı plasental (miR-17, -18a, -19a, -19b, -20a ve -92a) ve uterus (Let-7f, miR-27b, miR-130a ve miR-378) miRNA'ların VEGF üzerine doğrudan ve dolaylı olarak etki göstererek angiogenesis sürecini kontrol ettiği ortaya konmuştur [15, 19, 58]. Dicer enzimi bulun-

mayan insan uterus endotel hücrelerinde VEGF ve reseptörünün (tirozin-kinaz) ekspresyonunun miR-221 ve miR-222 tarafından baskılandığı ve bundan dolayı anjiyogenezis sürecinin aksadığı bildirilmiştir. Ayrıca, Drosha ve Dicer enzim eksikliğinde ise damar endotel hücrelerinde invazyon ve proliferasyonun şekillenmediği saptanmıştır [62].

Tablo 6. Gebeliğin düzenlenmesinde hücrel aktivite ile ilişkili miRNA'lar

Mikro RNA adı	Gebelik ile ilişkili fonksiyonu
miR-378a-5p	Trofoblast hücre proliferasyonu ve migrasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır [43].
miR-29b	Apoptozis, angiogenesis ve trofoblast invazyonunu düzenlemektedir. Ayrıca; MMP-2, VEGF ve integrin betal (ITGB) genlerinin ekspresyonlarının düzenlenmesinde de rol oynamaktadır [36].
miR-424, miR-101, miR-18a, miR-137, miR-335, miR-155, miR-185, miR-27	eNOS, sVEGFR-1 veya sFlt-1'i hedefleyerek hücre poliferasyonu ve migrasyonunu kontrol ettikleri ortaya konmuştur [4, 20, 61, 78].
miR-210, miR-34a ve miR-29b	Trofoblast hücre invazyonunu; homeobox, emmprin, integrin ve MMP-2'yi hedef olarak engellemektedirleri bildirilmiştir [20, 36].
miR-17, -18a, -19a, -19b, -20a, -92a, Let-7f, miR-27b, miR-130a ve miR-378)	Anjiogenesis sürecinin kontrolünde rol oynamaktadırlar [9; 15].
miR-221, miR-222, miR-20b, miR-20a, miR-17 ve miR-29b	İnsanlarda VEGF ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar [36, 62, 68].
miR-92, miR-17 ve miR-27	Domuzlarda anjiyogenezis sürecini kontrol etmektedirler [61].
miR-27a ve miR92b	Sığırlarda plasental gelişim döneminde VEGF ekspresyonunu düzenlemektedirler [29].
mmu-miR-27a, mmu-miR-27b ve mmu-miR-330	Farelerde renin-anjiyotensin sisteminin düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar [5, 22].
miR-29c	MMP ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır [32].
miR-29b	Gebelik komplikasyonu ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur [57].

İnsanlarda plasental angiogenesis sürecinde miR-20b, miR-20a, miR-17 [68] ve miR-29b [36]'nin kritik rollere sahip olduğu belirlenmiştir. miR-20b, miR-20a ve miR-17 angiogenesis sürecinde önemli rollere sahip olduğu bilinen, ekstrasellüler metalloproteinaz uyarıcısı (extracellular matrix metalloproteinase inducer; emmprin)'nin reseptörünü hedefleyerek VEGF ekspresyonunda artış sağlarken; miR-29b, VEGF ekspresyonunu baskılamaktadır [36, 68]. miR-29b'ye benzer şekilde, miR-16'da VEGF ekspresyonunu engelleyici bir etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur [69]. Domuzlarda, gebeliğin çeşitli dönemlerinde miR-92, miR-17 ve miR-27 gibi placent ile ilişkili miRNA'ların anjiyogenezisi düzenlediği bildirilmiştir [61]. Sığırlar üzerine yapılan bir çalışmada da plasentasyon döneminde miR-27a ve miR92b'nin diğer gebelik dönemlerine

göre ekspresyon seviyelerinin değiştiği ve VEGF ekspresyonunu düzenlediği ortaya konmuştur [29].

Maternal kaynaklı bazı faktörler, fetal miRNA ekspresyonunu doğrudan etkileyebilir. Bu durum miRNA ekspresyonunda meydana gelebilecek düzensizliklerin; fetal gelişim geriliğine veya uzun vadede ortaya çıkabilecek bozukluklara yol açabileceği anlamına gelmektedir [22, 32]. Farelerde maternal kaynaklı düşük proteinli diyetin, yavruların beyinlerinde renin-anjiyotensin sistemini düzenleyen mmu-miR-27a, mmu-miR-27b ve mmu-miR-330'un ekspresyon profillerini değiştirdiği belirlenmiştir [22]. Ayrıca yetersiz beslenmenin; gebelik süresince ekstrasellüler matriks ve anjiyogeneziste rol oynayan miRNA'ların ekspresyon profillerinin değişmesine neden olduğu bildirilmiştir [32]. Örneğin; Khorram ve ark., (2015) besin kısıtlaması ya-

pılan sıçanlarda MMP'lerin gen ekspresyonlarının, miR-29c tarafından düzenlendiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada da gebelikte miR-29b'nin obezite ile ilişkili olduğu ve anormal ekspresyonunun fetal ve maternal kardiovasküler sistem bozukluğuna neden olabileceği bildirilmiştir [57].

Sonuç

Gebelik, kompleks birtakım mekanizmaları içinde barındıran fizyolojik bir süreçtir. Gebelik sürecinde rol oynayan mekanizmaların neler olduğu ve bunların işleyiş mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da bu süreçte miRNA'ların önemli düzenleyici rollere sahip oldukları bildirilmektedir. Memelilerde hücre gen ekspresyonunun büyük bir kısmının miRNA'lar tarafından düzenleniyor olması, çeşitli fizyolojik faktörler arasında ki denge nin kurulmasında önemli rol oynadıklarını göstermektedir. Yapılan çalışmalar ile birlikte dokuya spesifik (uterus ve plasenta) veya dolaşımda bulunan miRNA'ların hücre ve moleküler etkileşimlerde önemli düzenleyici moleküller olduklarını göstermektedir. Uterus ve plasenta dokularında yapılan global miRNA ekspresyon analizlerinde gebelik boyunca belirlenen miRNA'ların menstrüasyon veya östrus siklusunun benzer günlerine göre ekspresyon profillerinin farklı olduğu belirlenmiştir. miRNA'ların ekspresyon profillerindeki bu farklılık gebelik ve gebelik ile ilişkili komplikasyonlarda miRNA'ların bir biyobiyobelirteç olarak kullanım alanının olabileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Agaoglu OK, Agaoglu AR, Guzeloglu A, Kurar E, Kayis SA, Ozmen O, Schäfer-Somi S, Aslan S (2015): Expression of hypoxia-inducible factors and vascular endothelial growth factor during pregnancy in the feline uterus. *Theriogenology*, 84: 24-33.
2. Altmäe S, Martinez-Conejero JA, Esteban FJ, Ruiz-Alonso M, Stavreus-Evers A, Horcajadas JA, Salumets A (2013): MicroRNAs miR-30b, miR-30d, and miR-494 regulate human endometrial receptivity. *Reprod Sci.*, 20: 308-317.
3. Bae IS, Chung KY, Yi J, Kim T, Choi HS, Cho YM, Choi I, Kim SH (2015): Identification of reference genes for relative quantification of circulating microRNAs in bovine serum. *Plos One*, 10(3):e0122554.
4. Bidarimath M, Khalaj K, Wessels JM, Tayade C (2014): MicroRNAs, immune cells and pregnancy. *Cell Mol Immunology*, 11, 538-547.
5. Cai M, Kolluru GK, Ahmed A (2017): Small Molecule, Big Prospects: MicroRNA in Pregnancy and Its Complications. *J pregnancy*, (17):69.
6. Carletti MZ, Christenson LK (2009): MicroRNA in the ovary and female reproductive tract. *J Anim Sci.*, 87(14): 29-38.

7. Chakrabarty A, Tranguch S, Daikoku T, Jensen K, Furneaux H, Dey SK (2007): MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci.*, (104)38:15144-15149.
8. Chan HW, Lappas M, Yee SWY, Vaswani K, Mitchell MD ve Rice GE (2013): The expression of the let-7 miRNAs and Lin28 signaling pathway in human term gestational tissues. *Placenta*, 34(5): 443-448.
9. Chegini N (2010): Uterine microRNA signature and consequence of their dysregulation in uterine disorders. *Anim Reprod.*, 7(3):117-128.
10. Chim SSC, Shing TKF, Hungetal ECW (2008): Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma, *Clin Chem.*, 54(3): 482-490.
11. Cuman C, Van Sinderen M, Gantier MP, Rainczuk K, Sorby K, Rombauts L (2015): Human blastocyst secreted microRNA regulate endometrial epithelial cell adhesion. *EBioMedicine.*, 2(10):1528-35.
12. Dammer EB, Sewer MB (2008): Phosphorylation of CTBP1 by cAMP-dependent protein kinase modulates induction of cyp17 by stimulating partnering of CTBP1 and 2. *J Biol Chem.*, 283:6925-6934.
13. Ding J, Huang F, Wu G (2015): MiR-519d-3p suppresses invasion and migration of trophoblast cells via targeting MMP- 2. *PLoS ONE*, 10(3): e0120321
14. Dini P, Loux SC, Scoggin KE, Esteller-Vico A, Squires E, Troedsson MHT, Daels P, Ball BA (2018): Identification of Reference Genes for Analysis of microRNA Expression Patterns in Equine Chorioallantoic. *Mol Biotechnol.*, 60(1): 62-73
15. Doebele C, Bonauer A, Fischer A, Scholz A, Reiss Yve Urbich C (2010): Members of the microRNA-17-92 cluster exhibit a cell-intrinsic antiangiogenic function in endothelial cells. *Blood.*, 115: 4944-4950.
16. Doridot L, Miralles F, Barbaux S, Vaiman D (2013): Trophoblasts, invasion, and microRNA. *Front Genet.*, 4:248.
17. Fiedler SD, Carletti MZ Hong X, Christenson LK (2008): Hormonal regulation of MicroRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 79: 1030-1037.
18. Flor I, Bullerdiek J (2012): The dark side of a success story: microRNAs of the C19MC cluster in human tumours. *J. Pathol.*, 227: 270-274.
19. Fontana L, Pelosi E, Greco P, Racanicchi S, Testa U, Liuzzi F, Croce CM, Brunetti E, Grignani F, Peschle C (2007): MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopenia through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat Cell Biol.*, 9:775-787.
20. Fu G, Brkic J, Hayder H ve Peng C (2013): MicroRNAs in Human Placental Development and Pregnancy Complications. *Int J Mol Sci.*, 14(3):5519-44.
21. Fu TY, Lin CT, Tang PC (2011): Steroid hormone regulated let-7b mediates cell proliferation and basigin expression in the mouse endometrium. *J Reprod Dev.*, 57(5): 627-635.
22. Goyal R, Lister R, Leitzke A, Goyal D, Gheorghie CP, Longo LD (2010): Brain rennin-angiotensin system: fetal epigenetic programming by maternal protein restriction. *Reprod sci.*, 17(3):227-38.
23. Gross N, Kropp J, Khatib H (2017): MicroRNA Signaling in Embryo Development. *Biology.*, 14:6(3).
24. Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, Bartel DP (2010): Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature.*, 466(7308): 835-840.
25. Hawkins SM, Andreu-Vieyra CV, Kim TH (2012): Dysregulation of uterine signaling pathways in progesterone receptor- cre knockout of dicer, *Mol Endocrinol.*, 26(9): 1552-1566.
26. Hosseini MK, Gunel T, Gumusoglu E, Benian A, Aydınli K (2018): MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss. *Mol Med Rep.*, 17:4941-4952.

27. Hu SJ, Ren G, Liu et al (2008): MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation. *J Biol Chem.*, 283(34):23473–23484.
28. Inyawilert W, Lin CT, Tang PC (2014): MicroRNA-199a mediates mucin 1 expression in mouse uterus during implantation. *Reprod Fertil Dev.*, 26(5):653–64.
29. Ioannidis J, Donadeu FX (2016): Circulating miRNA signatures of early pregnancy in cattle. *BMC Genomics.*, 17:184.
30. Kelly TJ, Souza AL, Clish CB, Puigserver PA (2011): Hypoxia-induced positive feedback loop promotes hypoxia-inducible factor 1 α stability through miR-210 suppression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like. *Mol Cell Biol*, 31(3): 2696–2706.
31. Keniry A, Oxley D, Monnier P (2012): The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. *Nat Cell Biol.*, 14(7): 659–665
32. Khorram O, Chuang TD ve Pearce WJ (2015): Long-term effects of maternal undernutrition on offspring carotid artery remodelling: role of miR-29c. *J Dev Orig Health Dis.*, 6(4):342-9.
33. Klohonatz KM, Cameron AD, Hergenreder JR, Silveira JC, Belk AD, Veeramevhaneni DNR, Bouma GJ, Bruemmer JE (2016): Circulating miRNAs as Potential Alternative Cell Signaling Associated with Maternal Recognition of Pregnancy in the Mare. *Bio Repr.*, 95(6):124, 1-12.
34. Kotlabova K (2011): Placental-specific microRNA in maternal circulation identification of appropriate pregnancy-associated microRNAs with diagnostic potential. *J Reprod Immunol.*, 89(2): 185–191.
35. Kozomara A, Birgaoanu M, Jones-Griffiths S (2019): miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res.*, 47: 155-162.
36. Li P, Guo W, Zhao J (2013): MicroRNA-29b contributes to pre-eclampsia through its effects on apoptosis, invasion and angiogenesis of trophoblast cells. *Clin Sci.*, 124(1):27-40.
37. Li X, Li C, Dong X ve Gou W (2014): MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase. *Mol Med Rep.*, 10(1): 550– 554
38. Liang J, Wang S ve Wang Z (2017): Role of microRNAs in embryo implantation. *Reprod Biol Endocrinol.*, 15:90.
39. Liu L, Wang Y, Fan H (2012): MicroRNA-181a regulates local immune balance by inhibiting proliferation and immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells. *Stem Cells.*, 30(8):1756–1770.
40. Liu WM, Pang RT, Cheong AW, Ng EH, Lao K, Lee KF (2012b): Involvement of microRNA lethal-7a in the regulation of embryo implantation in mice. *PLoS One.*, 7(5):37039.
41. Liu X, Zhan Z, Xu L (2010): MicroRNA-148/152 impair innate response and antigen presentation of TLR-triggered dendritic cells by targeting CaMKII α . *J Immunol.*, 185(12): 7244–7251
42. Lu T, Lu W, Zhao L (2017): MicroRNA-137 affects proliferation and migration of placenta trophoblast cells in preeclampsia by targeting ERR α . *Reprod Sci.*, 24(1): 85–96.
43. Luo L, Ye G, Nadeem L (2012): MicroRNA-378a-5p promotes trophoblast cell survival, migration and invasion by targeting Nodal. *J Cell Sci.*, 125(13): 3124–3132.
44. Melo CA, Melo SA (2014): Biogenesis and Physiology of MicroRNAs. Springer, 5-24.
45. Miura K, Morisaki S, Abe S, Higashijima A, Hasegawa Y, Miura S, Tateishi S, Mishima H, Yoshiura K ve Masuzaki H (2014): Circulating levels of maternal plasma cell-free pregnancy-associated placenta-specific microRNAs are associated with placental weight. *Placenta*, 35:848-851.
46. Morales-Prieto DM, Ospina-Prieto S, Chaiwangyen W, Schoenleben M ve Markert UR (2013): Pregnancy-associated miRNA-clusters. *J Reprod Immunol.*, 97(1): 51–61
47. Morales-Prieto DM, Schlessner E, Markert UR (2011): Reduction in miR-141 is induced by leukemia inhibitory factor and inhibits proliferation in choriocarcinoma cell line JEG-3. *Am J Reprod Immunol.*, 66(1): 57–62.
48. Morales-Prieto, DM, Chaiwangyen W, Ospina-Prieto S, Schneider U, Herrmann J, Gruhn B, Markert UR (2012): MicroRNA expression profiles of trophoblastic cells. *Placenta.*, 33: 725–734.
49. Mouillet JF, Chu T, Hubel CA, Nelson DM, Anthony P, Sadovsky Y (2010): The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction. *Placenta.*, 31(9):781-784.
50. Mouillet JF, Donker RB, Mishima T, Cronqvist T, Chu T ve Sadovsky Y (2013): The unique expression and function of miR-424 in human placental trophoblasts. *Biol Reprod.*, 89(2): 25.
51. Nothnick WB, Healy C (2010): Estrogen induces distinct patterns of microRNA expression within the mouse uterus. *Reprod Sci.*, 17: 987–994.
52. Nothnick WB, Healy C, Hong X (2010b): Steroidal regulation of uterine miRNAs is associated with modulation of the miRNA biogenesis components Exportin-5 and Dicer1. *Endocr.*, 37:265–273.
53. Ouyang Y, Mouillet JF, Coyne CB, Sadovsky Y (2014): Placenta-specific microRNAs in exosomes-good things come in nano packages. *Placenta.*, 35:69-73.
54. Pernaute B, Spruce T, Rodriguez TA, Manzanares M (2011): miRNA-mediated regulation of cell signaling and homeostasis in the early mouse embryo. *Cell Cycle*, 10(4):584–91.
55. Qian K, Hu L, Chen H, Li H, Liu N, Li Y, Zhu G, Tang Z, Zhang H (2009): Hsa-miR-222 is involved in differentiation of endometrial stroma cells in vitro. *Endocrinology.*, 150(10):4734-43.
56. Reliszko ZP, Gajewski Z, Kaczmarek MM (2017): Signs of embryo-maternal communication: miRNAs in the maternal serum of pregnant pigs. *Reproduction*, 154: 117-128.
57. Schlabritz N, Apostolakis K ve Dick E (2016): Pregnancy-Driven cardiovascular maternal miR-29 plasticity in obesity. *J Med Primatol.*, 45(6):297-303.
58. Serocki M, Bartoszezewska S, Jasiocka Janaszak A, Ochcka RJ, Collawn JF, Bartoszewski R (2017): miRNAs regulate the HIF switch during hypoxia: a novel therapeutic target. *Angiogenesis.*, 21:183-202.
59. Sinha PB, Tesfaye D, Rings F, Hossien M, Hoelker M, Held E (2017): MicroRNA-130b is involved in bovine granulosa and cumulus cells function, oocyte maturation and blastocyst formation. *J Ovarian Res.*, 10(1):37.
60. Song Y, An X, Zhang L, Fu M, Peng J, Han P, Hou J, Zhou Z, Cao B (2015): Identification and Profiling of microRNAs in Goat Endometrium during Embryo Implantation. *Plos One*, 0(4): 0122202.
61. Su L, Zhao S, Zhu M ve Yu M (2010): Differential expression of microRNAs in porcine placentas on Days 30 and 90 of gestation. *Reprod Fertil Dev.*, 22(8): 1175–1182.
62. Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, Sessa WC (2007): Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res.*, 100:1164–1173.
63. Taganov KD, Boldin MP, Baltimore D (2007): MicroRNAs and immunity: tiny players in a big field. *Immunity.*, 26:133–137.
64. Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, Hajkova P, Barton SC, Sun YA, Lee C, Tarakhovskiy A, Lao K, Surani MA (2007): Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. *Genes Dev.*, 21:644-648.

65. Tesfaye D, Worku D, Rings F, Phatsara C, Tholen E, Schellander K (2009): Identification and expression profiling of microRNAs during bovine oocyte maturation using heterologous approach. *Mol Reprod Dev.*, 76(7): 665–77.
66. Tili E, Michaille JJ, Cimino A, Costinean S, Dumitru CD, Adair B, Fabbri M, Alder H, Liu CG, Calin GA, Croce CM (2007): Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/ TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol.*, 179:5082–5089.
67. Vural R, Güzeloğlu A, Küplülü Ş (2012): Gebelik Fizyolojisi. s:125-156. Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji, Edit: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker. A., Medipress Yayıncılık Ltd Şti., Malatya.
68. Wang W, Feng L, Zhang H, Hachy S, Satohisa S, Laurent LC (2012): Preeclampsia up-regulates angiogenesis-associated microRNA (i.e., miR- 17, -20a, and -20b) that target ephrin-B2 and EPHB4 in human placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 97:E1051–E1059.
69. Wang Y, Fan H, Zhao G, Liu D, Du L, Wang Z, Hu Y, Hou Y (2012b): MiR-16 inhibits the proliferation and angiogenesis-regulating potential of mesenchymal stem cells in severe pre-eclampsia. *FEBS J.*, 289, 4510–4524.
70. Wessels JM, Edwards AK, Khalaj K, Kridli RT, Bidarimath M ve Tayade C (2013): The MicroRNAome of Pregnancy: Deciphering miRNA Networks at the Maternal-Fetal Interface, *Plos One.*, 8(11):72264.
71. Williams Z, Ben-Dov IZ, Elias R (2013): Comprehensive profiling of circulating microRNA via small RNA sequencing of cDNA libraries reveals biomarker potential and limitations. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 110(11):4255–4260.
72. Xia HF, Jin XH, Cao ZF, Hu Y, Ma X (2014): MicroRNA expression and regulation in the uterus during embryo implantation in rat. *FEBS J.*, 281: 1872–1891.
73. Yang Y, Xie Y, Wu M, Geng Y, Li R ve Xu L (2017): Expression of mmu-miR-96 in the endometrium during early pregnancy and its regulatory effects on stromal cell apoptosis via Bcl2. *Mol Med Rep.*, 15(4):1547–54.
74. Yuan S, Schuster A, Tang C, Yu T, Ortogero N, Bao J, Zheng H, Yan W (2016): Sperm-borne miRNAs and endo-siRNAs are important for fertilization and preimplantation embryonic development. *Development.*, 143: 635–647.
75. Zhang Q, Zhang H, Jiang Y, Xue B, Diao Z ve Ding L (2015): MicroRNA-181a is involved in the regulation of human endometrial stromal cell decidualization by inhibiting Kruppel-like factor 12. *Reprod Biol Endocrinol.*, 13:23.
76. Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H (2013): Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Asp Med.*, 34(5):939-80.
77. Zheng CY, Zou X, Lin HJ, Zhou BC, Zhang ML, Luo CH, Fu SX (2018): miRNA-185 regulates the VEGFA signaling pathway in dairy cows with retained fetal membranes. *Theriogenology.*, 110:116-121.
78. Zou Y, Jiang Z, Yu X (2014): MiR-101 regulates apoptosis of trophoblast HTR-8/SVneo cells by targeting endoplasmic reticulum (ER) protein 44 during preeclampsia. *J Hum Hypertens.*, 28(10):610–616.