



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PARKİNSON HASTALIĞINDA UZUN KODLAMAYAN RNA
(lncRNA) PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Fatma Gizem SARIEKİZ

Haziran 2022
DENİZLİ

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARKİNSON HASTALIĞINDA UZUN KODLAMAYAN RNA (lncRNA)
PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma Gizem SARIEKİZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayşe Gaye TOMATIR

Denizli, 2022

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öđrenci Adı Soyadı : Fatma Gizem SARIEKİZ

İmza :

ÖZET

PARKİNSON HASTALIĞINDA UZUN KODLAMAYAN RNA (lncRNA) PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Gizem SARIEKİZ
Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji AD
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ayşe Gaye TOMATIR

Haziran 2022, 86 Sayfa

Parkinson hastalığı (PH), Substantia Nigra'daki (SN) dopaminerjik nöronların kaybı ve sitoplazma içerisinde Lewy cisimciği adı verilen protein agregatlarının birikimi ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Uzun kodlamayan RNA'ların (long non-coding RNA=lncRNA) ifade düzeylerinde meydana gelen değişimler birçok hastalığın patogeneğinde yer almakta ve bu durum lncRNA'ları terapötik hedef ve biyobelirteç adayları haline getirmektedir. Araştırmamızda PH tanısı almış bireylerde lncRNA'lar ve onların hedef mRNA'larını belirlemeyi amaçladık. PAÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran 50 yaş ve üzeri "PH" tanısı almış 10 kişi ile kontrol grubu için 10 kişiden gönüllü onam formu ve etik kurul izni ile 10 ml periferik kan örnekleri alındı. Periferik kan mononükleer hücre izolasyonları (peripheral blood mononuclear cells=PBMC) density gradient santrifügasyonla gerçekleştirildi. Elde edilen PBMC'lerden total RNA izole edildi ve NanoDrop yardımıyla RNA konsantrasyonu belirlendi. Kontrol grubu ve PH teşhisi almış bireylerden izole edilen total RNA örneklerinden, toplam 5 örnek seçilerek mikrodizin analizi ile değerlendirildi. Analiz sonucunda kat değişimi fazla olan ($fc < 1.5$ / $fc > 1.5$) lncRNA'lar belirlenerek hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin tamamında kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile bazı lncRNA'ların ve onların hedef mRNA'larının ekspresyon değişimleri araştırıldı. Mikrodizin analiziyle ekspresyon değişimleri belirlenen Lin-7 homolog C (LIN7C), Lenfoid Arttırıcı Bağlanma Faktörü 1 Antisens RNA 1 (LEF1-AS1) ve CAMP-Bağımlı Protein Kinaz İnhibitör Alfa Antisens RNA 1 (PKIA-AS1) lncRNA'ları ile Serin/arginin birleştirme faktörü 10 (SRSF10), SMAD Aile Üyesi 2 (SMAD2), Eomesodermin (EOMES) ve LIM Homeobox 3 (LHX3) mRNA'larına özgün primerler tasarlanarak qRT-PCR yöntemi validasyonu gerçekleştirildi. Azalmış ekspresyon gösteren Lenfoid Arttırıcı Bağlanma Faktörü 1 Antisens RNA 1 (LEF1-AS1) lncRNA ile Eomesodermin (EOMES) ve LIM Homeobox 3 (LHX3) mRNA'larının qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı saptandı. Diğer yandan Lin-7 homolog C (LIN7C) ve CAMP-Bağımlı Protein Kinaz İnhibitör Alfa Antisens RNA 1 (PKIA-AS1) lncRNA'ları ile Serin/arginin birleştirme faktörü 10 (SRSF10) ve SMAD Aile Üyesi 2 (SMAD2) mRNA'larının mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyonu gözlemlendi. qRT-PCR sonucunda Lin-7 homolog C (LIN7C) lncRNA ile LIM Homeobox 3 (LHX3) ve Eomesodermin (EOMES) mRNA'ları ekspresyonlarındaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Elde edilen bulguların, Parkinsonlu bireylerde yapılacak yeni hedef lncRNA araştırmalarına katkı sağlayacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Parkinson, lncRNA, qRT-PCR, mikrodizin

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2020SABE024).

ABSTRACT**INVESTIGATION OF LONG NON-CODING RNA (lncRNA) PROFILES IN PARKINSON'S DISEASE**

SARIEKİZ,
Fatma Gizem

M.Sc.Thesis in Medical Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ayşe Gaye TOMATIR (PhD)

June 2022, 86 Pages

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by the loss of dopaminergic neurons in the Substantia Nigra (SN) and the accumulation of protein aggregates called Lewy bodies in the cytoplasm. Changes in the expression levels of long non-coding RNAs (long non-coding RNA = lncRNA) are involved in the pathogenesis of many diseases, and this makes lncRNAs candidates for therapeutic targets and biomarkers. In our study, we aimed to determine lncRNAs and their target mRNAs in individuals diagnosed with PD. 10 ml peripheral blood samples were obtained from 10 people aged 50 and over who applied to the PAU Faculty of Medicine, Department of Neurology with the diagnosis of "PD" and from 10 people for the control group, with voluntary consent and approval of the ethics committee. Peripheral blood mononuclear cell isolations (peripheral blood mononuclear cells=PBMC) were performed by density gradient centrifugation. Total RNA was isolated from the obtained PBMCs and the RNA concentration was determined with the help of NanoDrop. From the total RNA samples isolated from the control group and individuals diagnosed with PH, a total of 5 samples were selected and evaluated by microarray analysis. Expression changes of some lncRNAs and their target mRNAs were investigated by quantitative simultaneous polymerase chain reaction (qRT-PCR) in all individuals in the patient and control groups by identifying lncRNAs with a high fold change ($fc < 1.5$ / $fc > 1.5$) as a result of the analysis. qRT-PCR method validation was carried out by designing Lin-7 homolog C (LIN7C), Lymphoid Enhancer Binding Factor 1 Antisense RNA 1 (LEF1AS-1) and CAMP-Dependent Protein Kinase Inhibitor Alpha Antisense RNA 1 (PKIA-AS1) lncRNAs, whose expression changes were determined by microarray analysis, and specific primers for Serine/Arginine Rich Splicing Factor 10 (SRSF10), SMAD Family Member 2 (SMAD2), Eomesodermin (EOMES) and LIM Homeobox 3 (LHX3) mRNAs. It was determined that the expression of Lymphoid Enhancer Binding Factor 1 Antisense RNA 1 (LEF1-AS1) lncRNA, which showed decreased expression, and Eomesodermin (EOMES) and LIM Homeobox 3 (LHX3) mRNAs, increased as a result of qRT-PCR. On the other hand, increased expression of Lin-7 homolog C (LIN7C) and CAMP-Dependent Protein Kinase Inhibitor Alpha Antisense RNA 1 (PKIA-AS1) lncRNAs and Serine/Arginine Rich Splicing Factor 10 (SRSF10) and SMAD Family Member 2 (SMAD2) mRNAs was observed, consistent with microarray analysis. As a result of qRT-PCR, the increases in expression of Lin-7 homolog C (LIN7C) lncRNA and LIM Homeobox 3 (LHX3) and Eomesodermin (EOMES) mRNAs were found to be statistically significant. We believe that these findings will contribute to new target lncRNA studies to be conducted in the peripheral blood of individuals with Parkinson's disease.

Keywords: Parkinson, lncRNA, qRT-PCR, microarray

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project number 2020SABE024.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, eğitimim süresince bana yol gösteren, her daim desteğini hissettiğim, öğrencisi olmaktan onur duyduğum değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Ayşe Gaye TOMATIR 'a,

Tez çalışmamda kullandığım materyallerin temin edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Levent Sinan BİR 'e

Yüksek lisans öğrenimim süresince bilgilerinden yararlandığım, üzerimde emeği bulunan tüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı hocalarıma,

Tez laboratuvar çalışmamı destekleyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan AKÇA' ya ve tez sürecimde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bana vakit ayırıp ilgilenen, bilgi ve tecrübelerini aktaran Dr. Pervin Elvan TOKGÜN' e,

Nöroloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Elif AVCI ile Arş. Gör. Ahmet Mağrur KARAGÜLMEZ' e ve arkadaşlarıma,

Tez sürecimde anlayış ve güler yüzlülüğünün yanı sıra bilimsel katkıları için Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Hande Şenol'a

Ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca her koşulda yanımda olan canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	2
TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER	4
ŞEKİLLER DİZİNİ	7
TABLolar DİZİNİ	8
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	9
1. GİRİŞ	11
1.1. Amaç	13
2. KURAMSAL BİLGİ VE LİTERATÜR TARAMASI	14
2.1. Parkinsonizm	14
2.1.1. Parkinsonizm sınıflandırılması	14
2.2. Parkinson Hastalığı.....	14
2.2.1. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi.....	15
2.2.2. Parkinson Hastalığı Klinik Özellikleri	15
2.2.2.1. Parkinson Hastalığında Motor Semptomlar	16
2.2.2.1.1. İstirahat tremoru	16
2.2.2.1.2. Rijidite	16
2.2.2.1.3. Bradikinezi	17
2.2.2.1.4. Postural İnstabilite.....	17
2.2.2.2. Parkinson Hastalığında Non-Motor Semptomlar	17
2.2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi	18
2.2.3.1. Çevresel Faktörler.....	18
2.2.3.2. Genetik Faktörler	19
2.2.3.2.1. Otozomal Dominant PH ile İlişkili Genler	19
2.2.3.2.1.1. PARK1/PARK4: Alfa-Sinüklein Geni (SNCA)	19
2.2.3.2.1.2. PARK8: Lösün Bakımından Zengin Tekrar Kinaz 2 Geni (LRRK2) 19	
2.2.3.2.1.3. PARK17: VPS35, Retromer Kompleks Bileşen Geni (VPS35).....	20
2.2.3.2.2. Otozomal Resesif PH ile İlişkili Genler	20
2.2.3.2.2.1. PARK2: Parkin RBR E3 Ubikuitin Protein Ligaz Geni (PRKN).....	20
2.2.3.2.2.2. PARK6: PTEN ile İndüklenen Kinaz 1 Geni (PINK1)	20
2.2.3.2.2.3. PARK7: Parkinsonizm ile İlişkili Deglikaz Geni (PARK7; DJ-1).....	21
2.2.4. Parkinson Hastalığı Patogenezi	21
2.2.4.1. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres	22
2.2.4.2. Eksitotoksisite	23
2.2.4.3. Mikroglial Aktivasyon ve İnflamasyon.....	24

2.2.5.	Parkinson Hastalığı Tanı ve Tedavi.....	24
2.3.	PH'de Periferal Kan-Mononükleer Hücreler (PBMC'ler)	26
2.4.	Kodlamayan RNA'lar (ncRNA).....	27
2.5.	Uzun Kodlamayan RNA'lar (LncRNA).....	28
2.6.	LncRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi.....	31
2.6.1.	Metastazla İlişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1 (MALAT1)	32
2.6.2.	Ubiquitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1 (UCHL1).....	32
2.7.	PH'de LncRNA'lar	33
2.7.1.	Nükleer Parabinek Düzeneği Transkript 1 (NEAT1)	35
2.7.2.	Homeobox (HOX) Transkript Antisens RNA (HOTAIR)	35
2.7.3.	Mikrotübül İlişkili Protein Tau (MAPT)	35
2.8.	Hipotez ve Bilimsel Katkı	37
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38
3.1.	Gereçler.....	39
3.1.1.	Cihazlar.....	39
3.1.2.	Kimyasallar	40
3.1.3.	Kitler	40
3.1.4.	Kullanılan Primer Dizileri	41
3.2.	Yöntemler	42
3.2.1.	Density-Gradient Santrifüj Yöntemi ile Periferal Kan-Mononükleer Hücre (PBMC) İzolasyonu	42
3.2.2.	PBMC'lerden Total RNA İzolasyonu.....	42
3.2.3.	RNA Miktar ve Saflık Tayini.....	43
3.2.4.	Mikrodizin Analizi	43
3.2.5.	cDNA Sentezi	45
3.2.6.	LncRNA'ların Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Analizi.....	45
3.2.7.	LncRNA Hedeflerinin Gen Ontoloji (GO) Analizleri.....	46
3.2.8.	İstatistiksel Analiz.....	46
4.	BULGULAR	47
4.1.	Mikrodizin Analizi Verilerinin Kalite Kontrolü	47
4.2.	Mikrodizin Analizi	56
4.3.	Ekspresyon Değişimi Saptanan lncRNA'ların qRT-PCR Yöntemi ile Doğrulanması	57
4.4.	İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	58
4.5.	Gen Ontoloji Analizleri	59
5.	TARTIŞMA.....	61
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	68
7.	KAYNAKLAR.....	69
8.	ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

9. **EKLER** Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Ek 1 Etik Kurul Onayı **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Substantia Nigra</i> 'nın Dopaminerjik Sinir Hücrelerinde Lewy Cisimcikleri (Braak ve Tredici 2009).....	22
Şekil 2. Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres Patogenezi (Küçükali vd 2017).....	23
Şekil 3. PBMC İzolasyonunda Fazların Oluşumu (Bharadwaj vd 2012).....	26
Şekil 4. Lokalizasyonlarına Göre LncRNA'lar (Mercer vd 2008).	29
Şekil 5. LncRNA'ların Patolojik Fonksiyonları (Yang vd 2021).	31
Şekil 6. LncRNA'ların İşlevleri (Lyu vd 2019).....	33
Şekil 7. Parkinson Hastalığı ile İlişkili LncRNA'lar (Lv vd 2020).	34
Şekil 8. Mikrodizin Deney Yöntemi	44
Şekil 9. Örneklerin Density Plot Analizi.....	47
Şekil 10. Normalleştirilmiş Sinyalin Yüzdesine Dayalı Olarak Örnek İfadesinin Dağılımını Gösteren Box Plot Grafiği.....	47
Şekil 11. Benzer Özellik Gösteren Verilerin Hiyerarşik Kümeleme Grafiği	48
Şekil 12. 5 Örnek Arasındaki Benzerliği ve Toplam Verilerin Değişkenliğini gösteren MDS grafiği.....	48
Şekil 13. Level Plot Analizi ile 5 Örneğe Ait Korelasyon Matrisi	49
Şekil 14. Veri Kalite Kontrolünün Scatter Plot Analizi ile Gösterilmesi	49
Şekil 15. Kontrol ve Hasta Örneklerinin Prob Dağılımlarında Pozitif ve Negatif Kontrollerin Karşılaştırılması	50
Şekil 16. Hasta ve Kontrol Grubu Örneklerinde 1,5 ve 2 Kat Ekspresyon Değişimi Saptanan Prob Sayıları	51
Şekil 17. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Katsayı Değişimi (fold-change) Dağılımı. a) H6 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi. b) H8 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi. c) H9 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi.	53
Şekil 18. Hasta ve Kontrol Grupları Arasındaki Problemlerin Ekspresyon Seviyelerinin Dağılım Grafiği Olarak Gösterilmesi. a) H6 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği. b) H8 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği. c) H9 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği.	55
Şekil 19. Farklı Olarak Eksprese Edilen LncRNA'ların Hiyerarşik Kümeleme (heat map) Analizi ile Gösterilmesi	55
Şekil 20. qRT-PCR ile Belirlenen LncRNA İfade Değişimleri	57
Şekil 21. qRT-PCR ile Belirlenen mRNA İfade Değişimleri	58
Şekil 22. (a,b,c). Gen Ontoloji Analizi Sonucu En Çok Anlamlılık Gösteren 20 Süreç ($p < 0.05$)	61

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Parkinson Hastalığında Görülen Semptomlar	16
Tablo 2. Hasta Grubu İçin Çalışmaya Dahil Olma ve Dışlama Kriterleri.....	38
Tablo 3. Kontrol Grubu İçin Çalışmaya Dahil Olma ve Dışlama Kriterleri.....	39
Tablo 4. Kullanılan Cihazlar	39
Tablo 5. Kullanılan Kimyasallar	40
Tablo 6. Kullanılan Kitler	40
Tablo 7. Kullanılan Primer Dizileri	41
Tablo 8. cDNA Çevrimi Reaksiyon Koşulları.....	45
Tablo 9. Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları	46
Tablo 10. Kontrollere Göre Hasta Gruplarında <i>Upregüle</i> Bulunan LncRNA'lar	56
Tablo 11. Kontrollere Göre Hasta Gruplarında <i>Downregüle</i> Bulunan LncRNA'lar.....	56
Tablo 12. Demografik Veriler.....	58
Tablo 13. LncRNA ve mRNA qRT-PCR Verilerinin İstatistiksel Analizi	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α -syn.....	Alfa-Sinüklein
APT.....	Affymetrix Power Tools
RMA.....	Robust Multi-Average
ATP.....	Adenozin Trifosfat
AH.....	Alzheimer Hastalığı
ALS.....	Amyotrofik Lateral Skleroz
BOS.....	Beyin Omurilik Sıvısı
cDNA.....	Komplementer DNA (Complementary DNA)
ceRNA.....	Rekabetçi Endojen RNA (Competing Endogenous RNA)
CNS.....	Merkezi Sinir Sistemi (Central Nervous System)
DEG.....	Diferansiyel Olarak Eksprese Edilmiş Gen
DElncRNA.....	Diferansiyel Olarak Eksprese Edilmiş Uzun Kodlamayan RNA
DJ-1.....	Parkinsonizm ile İlişkili Deglikaz Geni
DKB.....	Dürtü Kontrol Bozuklukları
DLBD.....	Yaygın Lewy Cisimciği Hastalığı (Diffuse Lewy Body Disease)
DNA.....	Deoksiribonükleik Asit
DNMT1.....	DNA Metiltransferaz 1
DUB.....	Deubikuitinleştirici Enzim
EAE.....	DeneySEL Otoimmün Ensefalomyelit (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis)
EOMES.....	Eomesodermin
GBA1.....	Glukoserebrozidaz
GO.....	Gen Ontoloji
HH.....	Huntington Hastalığı
HOTAIR.....	Homeobox transkript antisens RNA
HOX.....	Homeobox
HUC1.....	H19 yukarı akış korunmuş bölge 1 (H19 Upstream Conserved 1)
HUC2.....	H19 yukarı akış korunmuş bölge 2 (H19 Upstream Conserved 2)
KEGG.....	Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)
LB.....	Lewy cisimcikleri (Lewy Body)
L-DOPA.....	Levodopa
LEF1-AS1.....	Lenfoid Arttırıcı Bağlanma Faktörü 1 Antisens RNA 1 (Lymphoid Enhancer Binding Factor 1 Antisense RNA 1)
LHX3.....	LIM Homeobox 3
LIM-HD.....	LIM-homeodomain
LIN7C.....	Lin-7 homolog C
LincRNA.....	Uzun İntergenik RNA (Long İntergenic RNA)
LncRNA.....	Uzun Kodlamayan RNA (Long Noncoding RNA)
LPS.....	Lipopolisakkarit
LRRK2.....	Lösin Bakımından Zengin Tekrar Kinaz (Leucine Rich Repeat Kinase)
MALAT1.....	Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1 (Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1)
MAPT-AS1.....	MAPT Antisens RNA 1 (MAPT Antisense RNA 1)
MAPT.....	Mikrotübül İlişkili Protein Tau (Microtubule Associated Protein Tau)
MDS.....	Çok Boyutlu Ölçekleme Grafiği (Multidimensional Scaling)
MDS.....	Hareket Bozukluğu Derneği (Movement Disorders Society)

miRNA.....	MikroRNA (MicroRNA)
MPP.....	1-metil-4-fenil piridinyum
MPTP.....	1-Metil 4-fenil 1,2,3,6 tetrahidropiridin
mRNA.....	Mesajcı RNA (Messenger RNA)
ncRNA.....	Kodlamayan RNA (Noncoding RNA)
NEAT1.....	Nükleer Parabenek Düzeneği Transkripti 1 (Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1)
NF-κB.....	Nükleer Faktör kappa B (Nuclear Factor kappa B)
ORF.....	Açık Okuma Çerçevesi (Open Reading Frame)
OS.....	Oksidatif Stres
PBMC.....	Periferik Kan Mononükleer Hücre (Peripheral Blood Mononuclear Cells)
PH.....	Parkinson Hastalığı
PINK1-AS1.....	PINK1 Antisense RNA (PTEN Induced Kinase 1 Antisense RNA)
PINK1.....	PTEN ile İndüklenen Kinaz 1 Geni (PTEN Induced Kinase 1)
piRNA.....	Piwi-ilişkili RNA (Piwi-interacting RNA)
PKIA-AS1.....	CAMP-Bağımlı Protein Kinaz İnhibitör Alfa Antisens RNA 1 (CAMP-Dependent Protein Kinase Inhibitor Alpha Antisense RNA1)
PRC1.....	Polycomb Baskılayıcı Kompleks 1 (Polycomb Repressive Complexes)
PRC2.....	Polycomb Baskılayıcı Kompleks 2 (Polycomb Repressive Complexes)
PRKN.....	Parkin RBR E3 Ubikuitin Protein Ligaz (Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase)
PTEN.....	Fosfataz ve Tensin Homologu (Phosphatase and Tensin Homolog)
PCR.....	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
qRT-PCR.....	Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR (Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR)
RDB.....	REM Uyku Davranış Bozukluğu (REM Behavior Disorder)
REM.....	Hızlı Göz Hareketi (Rapid Eye Movement)
RNA.....	Ribonükleik Asit
ROS.....	Reaktif Oksijen Türleri
siRNA.....	Kısa İnterferans RNA (Small İnterfering RNA)
SMAD2.....	SMAD Aile Üyesi 2 (SMAD Family Member 2)
SNCA.....	Alfa-Sinüklein (Synuclein Alpha)
SNCA-AS1....	Alfa-Sinüklein Antisens Transkript (Alpha-synuclein Antisense Transcript)
sncRNA.....	Kısa Kodlamayan RNA (Small Noncoding RNA)
SNHG1.....	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 1 (Small Nucleolar RNA Host Gene)
Snpc.....	<i>Substantia nigra pars compacta</i>
SN.....	<i>Substantia nigra</i>
SRSF10.....	Serin/arginin Birleştirme Faktörü 10 (Serine/arginine Rich Splicing Factor 10)
SSc.....	Sistemik Skleroz (Systemic Sclerosis)
TGF-β.....	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-β (Transforming Growth Factor-β)
TncRNA.....	Transfer RNA'dan Türetilen Kodlamayan RNA (Transfer RNA-derived Noncoding RNA)
Treg.....	Düzenleyici T hücreleri (Regulatory T Cells)
UCHL1-AS1...	UCHL1 Antisens RNA (Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1)
UCHL1.....	Ubikuitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1 (Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1)
UPS.....	Ubikuitin-Proteazom Sistemi (Ubiquitin-Proteasome System)
UTR.....	Çevrilmemiş Bölge (Untranslated Region)
XIST.....	X-inaktif Spesifik Transkript (X-Inactivation Specific Transcript)

1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH), ilk olarak 1817 yılında James Parkinson tarafından tanımlanan, Alzheimer hastalığından (AH) sonra en yaygın görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir (Wirdefeldt vd 2011). PH, “beyin sapı” denilen bölgedeki *substantia nigra pars compacta* (Snpc)’de bulunan dopamin salgılayan hücrelerin dejenerasyonu veya kaybı ile ortaya çıkmaktadır. Ayrıca Parkinson hastalığı, temel bileşeni alfa-sinüklein (α -syn) proteinleri olan Lewy cisimciklerinin birikimi ile de karakterizedir. Lewy cisimcikleri, ilgili sinir hücreleri arasındaki bağlantıları yok ederek ve nörotransmitterlerin akışını engelleyerek etkisini göstermektedir (Pollanen vd 1993, Wakabayashi vd 2013). Bireylerde dopaminerjik nöronların %70-80’inin kaybolması ile Parkinson hastalığının belirtileri görülmektedir (Schapira 1999). Çalışmalar, *substantia nigra*’daki (SN) dopaminerjik nöronların dejenerasyonunun ve apoptozunun; alfa-sinüklein kümelenmesi, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, eksitotoksisite ve nöroinflamasyon ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Olanow 2007, Schapira vd 1998). Tüm bu mekanizmaların ortak etkisi PH gelişimini desteklemektedir.

Parkinson hastalığının tanısı klinik semptomlara bağlıdır. Klinik olarak; titreme, kas sertliği (rijidite), yavaş hareket (bradikinezi) ve postural instabilite gibi motor semptomlar ve koku almada azalma, kabızlık, uyku sorunları, depresyon ve demans gibi non-motor semptomlar Parkinson hastalığının bulguları arasındadır (Schapira vd 2017, Chaudhuri vd 2010). Son yıllarda PH'nin moleküler mekanizmasını daha iyi anlamak, erken tanıyı desteklemek ve etkili terapötik hedefler geliştirmek için biyobelirteçlerin araştırılması önem kazanmıştır (Miller ve O’Callaghan 2015).

İnsan genomunun büyük bir kısmı RNA’ya çevrilmekte ve bu transkribe olan RNA’ların yalnızca %1-2’lik kısmının kodlanarak proteine translasyonu gerçekleşmektedir. Geri kalanı, DNA’dan transkribe olan fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen RNA molekülleri, kodlanmayan (*non-coding*) RNA’lar olarak adlandırılmaktadır (Lander vd 2001, Zhang vd 2019). Kodlamayan RNA’lar kan dolaşımındaki varlıkları ve göreceli stabiliteleriyle potansiyel hastalık belirteçleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalıkların ilerlemesine yol açan çoklu biyolojik yolları etkilemekte ve bu nedenle umut verici teröpatik hedefler olarak görülmektedirler (Niu vd 2016, Kim vd 2016). Kodlamayan RNA’lar uzunluklarına göre; 200 nükleotitten daha kısa olanlar kısa kodlamayan RNA’lar (*small non-coding RNA: sncRNA*) ve 200 nükleotitten uzun olanlar uzun kodlamayan RNA’lar (*long non-coding RNA: lncRNA*) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (Zhang vd 2019).

LncRNA'lar; X kromozomu inaktivasyonu, genomik imprinting, kromatin modifikasyonu, transkripsiyonel etki ve epigenetik düzenleme gibi süreçlerde fonksiyon göstermektedir (Quinn ve Chang 2016). Yapılan çalışmalar lncRNA'ların merkezi sinir sisteminin (*Central nervous system: CNS*) gelişiminde ve işlevinde önemli roller oynadığını (Ng vd 2013); lncRNA'ların mutasyonu ve anormal düzenlenmesinin kanser ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Sunwoo vd 2017, Yuan vd 2016). Böylece lncRNA'lardaki değişiklikler, hastalıkların patogenezinde anahtar faktörler olabilmekte ve hastalığa özgü belirteçleri temsil edebilmektedir (Lyu vd 2019).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda PH'li hastaların beyinlerinin çeşitli bölümlerinde lncRNA'ların anormal ekspresyon profilleri gösterilmiştir. LncRNA'lar gen ekspresyonunu hem aktive ederek hem de baskılayarak hareket edebilmekte ve PH bağlantılı genlerin düzenlenmesinde anahtar bileşen olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda MAPT-AS1 (Mikrotübül İlişkili Protein Tau Antisense RNA 1) ve UCHL1-AS1 (Ubikuitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1) lncRNA'larının sırasıyla MAPT (Mikrotübül İlişkili Protein Tau) ve UCHL1 (Ubikuitin karboksil terminal hidrolaz L1) genlerinin ekspresyon seviyelerini etkilediği bildirilmiştir (Coupland vd 2016, Carrieri vd 2015).

Elkouris vd (2019) bir dizi lncRNA'nın, SNCA (alfa-sinüklein), LRRK2 (Lösin Bakımından Zengin Tekrar Kinaz 2), PINK1 (PTEN ile İndüklenen Kinaz 1 Geni), DJ-1 (Parkinsonizm ile İlişkili Deglikaz Geni), UCHL1 (Ubikuitin karboksil terminal hidrolaz L1), MAPT (Mikrotübül İlişkili Protein Tau) ve GBA1 (Glukoserebrozidaz) gibi PH'ye bağlı genlerin ekspresyonunu değiştirebileceğini ve böylece PH'den etkilenen beyin bölgeleri ile spesifik lncRNA'lar arasında bir korelasyon oluşturduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada altı lncRNA'nın; SNCA-AS1 (Alfa-Sinüklein antisens transkripti), AK127687, UCHL1-AS1 (Ubikuitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1 Antisens RNA), PINK1-AS1 (PTEN ile İndüklenen Kinaz 1 Geni Antisense RNA), AX747125 ve MAPT-AS1'nin SN'de ve bunlardan üçünün; AK127687, UCHL1-AS1 (Ubikuitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1 Antisens RNA) ve MAPT AS1 (Mikrotübül İlişkili Protein Tau Antisense RNA 1)'in Parkinson hastalarının serebellumunda kontrollere kıyasla daha az ifade edildiği gösterilmiştir.

Kraus vd (2017), PH'li hastaların beyin dokularında farklı şekilde eksprese edilen ve biyobelirteçler olarak hizmet edebilecek beş lncRNA; H19 yukarı akış korunmuş bölge 1 ve 2 (HUC1 ve HUC2), lincRNA-p21 (Uzun İntergenik Kodlamayan RNA p21), MALAT1 (Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1), SNHG1 (Küçük

Nükleolar RNA Konak Gen 1) ve TncRNA (Transfer RNA'dan Türetilen Kodlamayan RNA'lar) tanımlamıştır. Çalışmada lncRNA-p21, MALAT1, SNHG1 ve TncRNA'nın önemli ölçüde artmış ifadeye sahip oldukları bulunmuştur. Dikkat çekici bir şekilde, bu düzensiz lncRNA'lar PH'nin erken evrelerinde gözlenmiş ve hastalığın seyrinden önce ortaya çıkmıştır.

Parkinson hastalarının *substantia nigra*'sındaki lncRNA ekspresyon profillerini araştıran bir çalışmada PH oluşumu sırasında SN'de önemli ölçüde değişiklik gösteren 87 lncRNA belirlenmiştir. Bu lncRNA'lar arasında çarpıcı şekilde değişiklik gösteren lncRNA'lar; lncRNA AL049437 ve lncRNA AK021630 olarak bulunmuştur. PH örneklerinde AL049437'nin *upregüle*, AK021630'un ise *downregüle* edildiği ve lncRNA AL049437'nin PH riskine katkıda bulunduğu, lncRNA AK021630'un ise PH oluşumunu engellediği sonucuna ulaşılmıştır (Ni vd 2017).

Biriken kanıtlar, birçok biyolojik süreçte lncRNA'ların önemli rollerini göstermektedir. lncRNA'lar, PH'de potansiyel tanısal belirteçler veya yeni terapötik hedefler olarak belirtilmektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalarda Parkinson hastalığında lncRNA'ları periferik kan hücrelerinde analiz eden sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışma, lncRNA'ların Parkinson hastalığında terapötik hedefleri üzerine yapılan ve yapılacak olan çalışmalara destek olması açısından son derece önemlidir.

1.1. Amaç

Bu çalışmada, "Parkinson hastalığı" tanısı almış olgularda, uzun kodlamayan RNA'ların ve onların hedef mRNA'larının hastalardaki ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve olası yeni belirteçlerin tanımlanması amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL BİLGİ VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Parkinsonizm

"Parkinsonizm" bradikinezi (hareketlerde yavaşlık), titreme ve rijidite (kas sertliği) gibi motor belirtileri içeren herhangi bir bozukluğu ifade eden en geniş terim olarak tanımlanmaktadır (Bohlhalter ve Kaegi 2011). Parkinson hastalığı (PH), parkinsonizmin en yaygın görülen klinik örneğidir (Bower vd 1999). Parkinsonizm dört sınıfta ele alınabilir: Birincil Parkinsonizm, İkincil Parkinsonizm (enfeksiyonlar, toksinler vb.), Parkinson-artı sendromlar ve kalıtsal dejeneratif hastalıklar (Bohlhalter ve Kaegi 2011).

2.1.1. Parkinsonizm sınıflandırılması

Birincil (dejeneratif) parkinsonizm

- Parkinson hastalığı (Sporadik / Bilinen genetik etiyoloji)
- Parkinson-artı sendromlar
 - İlerleyici supranükleer felç
 - Çoklu sistem atrofisi
 - Kortikobazal dejenerasyon
 - Yaygın Lewy cisimciği hastalığı (DLBD)
- Heredo-dejeneratif bozukluklar
 - Wilson hastalığı
 - Huntington hastalığı
 - X'e bağlı distoni-parkinsonizm

İkincil (edinilmiş, semptomatik) parkinsonizm (çevresel etiyoloji)

- İlaçlar
- Postensefalitik
- Toksinler: Mn, CO, MPTP, siyanür
- Kafa travması

2.2. Parkinson Hastalığı

PH dopaminerjik nöronların kaybı ile karakterize, temelde hareket bozukluğuna yol açan nörodejeneratif bir hastalıktır. Parkinson hastalığı ilk kez 1817 yılında İngiliz hekim James Parkinson tarafından "titremeli felç" olarak tanımlanmıştır. James Parkinson, istirahatte titreme, yavaşlık (bradikinezi) veya bazı durumlarda istemli

hareketlerin yokluğu (akinezi), kambur duruş gibi semptomları tanımlamış ve daha sonraları Fransız nörolog Jean Martin Charcot, kas rijiditesi, mikrografi, duysal değişiklikler gibi birçok özelliği ekleyerek hastalığa “Parkinson hastalığı” adını vermiştir (Pearce 1989).

PH patolojik olarak *substantia nigra pars compacta*'da dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ve sitoplazma içerisinde temel bileşeni alfa-sinüklein proteinleri olan Lewy cisimciği adı verilen birikimlerin bulunması ile karakterizedir (Pollanen vd 1993, Wakabayashi vd 2013). PH semptomlarının görülmesi için dopaminerjik nöronların %70-80'nin kaybedilmesi gerekmektedir (Schapira 1999).

PH'de etkilenen beyin bölgesinde hücre ölümünün nasıl gerçekleştiği tam olarak bilinmemekle birlikte ipuçları sağlayan bazı biyokimyasal anormallikler tanımlanmıştır. Bunlar arasında; alfa-sinüklein kümelenmesi, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, eksitotoksisite ve nöroinflamasyon yer almaktadır (Olanow 2007, Schapira vd 1998). Tüm bu mekanizmaların ortak etkisi PH gelişimini desteklemektedir.

2.2.1. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi

PH, Alzheimer hastalığından sonra ikinci en yaygın nörodejeneratif bozukluktur. PH için ana risk faktörü artan yaştır. PH prevalansı genel popülasyonda %0,3, 60 yaş üzeri %1,0 ve 80 yaş ve üzerinde %3,0'dır (De Lau ve Breteler 2006, Nussbaum ve Ellis 2003, Tanner ve Goldman 1996). Hastalığın ortalama başlangıç yaşı 60'tır. Artan yaş ile hastalığın görülme sıklığı artıyor olsa da nadir olarak genç yaşta da görülebilmektedir. 60 yaşından önce çeşitli belirtiler gösteren kesim, tüm hastaların %5'ini oluşturmaktadır (Reeve vd 2014).

Cinsiyete göre bakıldığında, hastalığın hem insidansı hem de prevalansı erkeklerde kadınlara göre 1.5 ile 2 kat daha yüksektir (De Lau vd 2004, Benito-Leon vd 2003). Yapılan bir çalışmada PH'ye sahip menopoz dönemi sonrasında bulunan kadınlarda, düşük doz östrojenin motor fonksiyon bozukluğunu azaltmada etkili bir ek tedavi olabileceği gözlenmiştir (Tsang vd 2000).

2.2.2. Parkinson Hastalığı Klinik Özellikleri

PH'de motor ve non-motor semptomlar birlikte görülebilmektedir (Tablo 1). PH klinik olarak; istirahatte titreme, kas sertliği (rijidite), yavaş hareket (bradikinezi) ve

postural instabilite gibi motor semptomlar ile karakterizedir (Schapira vd 2017). Tüm bu motor semptomlara ek olarak davranışsal ve bilişsel semptomlar ile gastrointestinal ve ürogenital sistem semptomları non-motor semptomlar arasında yer almaktadır (Chaudhuri vd 2010).

Tablo 1. Parkinson Hastalığında Görülen Semptomlar

Motor Semptomlar	Non-Motor Semptomlar
Tremor	Kognitif Bozukluk
Rijidite	Depresyon
Postural instabilite	Apati
Akinezi	Üriner Disfonksiyon
Distoni	REM Uykusu Davranış Bozukluğu
Skolyoz	Koku Alma Duyusunun Kaybı
Ayakları Sürüyerek Yürüme	Ortostatik Hipotansiyon
Azalmış Kol Salınımı	Huzursuz Bacak Sendromu
Günlük Yaşam Aktivitelerinde Yavaşlama	Halüsinasyon

2.2.2.1. Parkinson Hastalığında Motor Semptomlar

2.2.2.1.1. İstirahat tremoru

İstirahat tremoru, PH'nin en yaygın ve kolay tanınan semptomudur. Hasta istirahat halindeyken vücudun bir bölümünde ritmik ve istemsiz hareketler olarak görülmektedir. PH'de tremor, tek tarafta daha belirgin olarak 4 ile 6 Hz arasında bir frekansta meydana gelmekte ve en sık ellerde olmakla birlikte dudakları, çeneyi ve bacakları, nadiren de boyun/baş bölgesini de tutabilmektedir (Jankovic 2008).

2.2.2.1.2. Rijidite

Rijidite (kaslarda sertleşme), hastanın rahat pozisyonunda bir eklemin pasif hareketlerine karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır (Mendonça ve Jog 2008). Rijidite; ekstremitelerde, boyun, gövde ve bazen sırt kaslarında sertlik olarak gözlemlenmektedir. Ayrıca rijidite skolyoz gibi anormal aksiyel duruşlara katkıda

bulunabilmektedir. PH'de, rijiditeye genellikle bir "dişli çark" fenomeni eşlik etmekte ve bu tremorun yansıması olarak kabul edilmektedir. "Dişli çark belirtisi" hastalarda kastaki direncin kesik kesik çözülmesi olarak tanımlanmaktadır (Jankovic 2008).

2.2.2.1.3. Bradikinezi

PH'nin en kolay tanınabilen semptomlarından biri olan bradikinezi hareketin yavaşlığını ifade etmektedir. Bradikinezi, bir hareketi başlatma, planlama ve yürütme gibi sıralı ve eş zamanlı bir görevi yerine getirme ile ilgili zorlukları kapsamaktadır (Berardelli vd 2001).

Klinik olarak hastalarda; yutma işlevinin azalmasına bağlı salya akması, yüzlerin maskelenmesi (Hipomimi), günlük yaşam aktivitelerini gerçekleştirmede yavaşlık ve göz kırpmaya hızında azalma ve yürürken kol salınımında azalma ya da yaptıkları ardışık hareketlerin genliğinde azalma gibi belirtiler gözlenmektedir (Bagheri vd 1999, Jankovic 2008).

2.2.2.1.4. Postural İnstabilite

Postural instabilite postural reflekslerin kaybına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Postural refleksler vücudun ani pozisyon değişikliklerinde dengeyi sağlamaktadır. PH'nin ilerleyen evrelerinin bir belirtisidir ve genellikle hastalıkta görülen diğer klinik özelliklerin başlangıcından sonra ortaya çıkmaktadır. Parkinson hastalarında postural dengesizlik (yürüyüşün donmasıyla birlikte), düşmelerin en yaygın nedenidir. Hastalarda postural refleksleri değerlendirmek için çekme testi (pull test) adı verilen bir test uygulanmaktadır. Bu testte hasta omuzlarından hızla geriye veya ileriye doğru çekilir. Postural instabilite varlığı hastanın geriye doğru iki adımdan fazla atması ya da postural yanıtın olmaması ile karakterizedir (Jankovic 2008, Williams vd 2006).

2.2.2.2. Parkinson Hastalığında Non-Motor Semptomlar

Parkinson hastalarında başlıca motor semptomların yanısıra non-motor semptomlar da hastaların hayatlarını olumsuz bir şekilde etkilemektedir. Teşhis konan hastalarda motor semptomlar başlamadan önce non-motor semptomlar gelişebilmektedir. Koku alma disfonksiyonu, REM uykusu davranış bozukluğu (RDB), kabızlık, üriner sistem bozukluğu, depresyon gibi semptomlar non-motor semptomlar arasındadır (Berg vd 2015). Hızlı göz hareketi uykusu davranış bozukluğu, REM

uykusu sırasında motor veya bilişsel olayların ortaya çıkmasıyla yumruk atma, tekmeleme ve ses çıkarma gibi anormal davranışlara yol açması ile karakterizedir (Dauvilliers vd 2013). Hastaların çoğunda hafif bilişsel bozukluk hastalığının ilk evrelerinde belirgin olmakla birlikte ilerleyen evrelerde demans ve halisünasyonlar gibi semptomlar ortaya çıkabilmektedir (Chaudhuri vd 2010).

Dopamin, hareket kontrolünden sorumlu olduğu gibi davranışları da düzenlemektedir (Ertan ve Benbir 2011). Dopaminerjik PH tedavisi non-motor sendromların oluşmasına neden olmaktadır. Dürtü kontrol bozuklukları (DKB), tekrar eden davranışlar, karar verme yetenekleri gibi davranışsal durumlar dopaminerjik ilaçlardan etkilenmektedir (O'Sullivan vd 2009).

2.2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi

Parkinson hastalığı ailesel (monojenik) ve sporadik olarak sınıflandırılmaktadır. Ailesel form, hastaların yaklaşık %5'ini oluşturmakta ve hastalık çoğunlukla sporadik şekilde oluşmaktadır. Parkinson hastalığı, en büyük risk faktörü olarak yaşın rol oynadığı, genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimi sonucu oluşan multifaktöriyel bir hastalık olarak görülmektedir (Lev ve Melamed 2001).

2.2.3.1. Çevresel Faktörler

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar; böcek ilaçları, herbisitler, endüstriyel kimyasallar, çiftçilik ve kırsal bir ortamda yaşama gibi bir dizi faktörün Parkinson hastalığının gelişmesine neden olabileceğini göstermektedir (Liou vd 1997). Diğer faktörler olarak demir, kurşun ve manganez gibi ağır metallerle maruz kalma PH patogeneğinde önemli bir faktör olan alfa-sinüklein (α -syn) proteinlerinin birikimi ile ilişkilendirilmektedir (Chin-Chan vd 2015).

1983'te Kaliforniya'da yapılan bir çalışmada, uyuşturucu bağımlılarının 1,2,3,6-metil-fenil-tetrahidropiridin (MPTP) kullanımıyla hem klinik hem de patolojik olarak Parkinson hastalığına benzeyen bir sendrom geliştirmeleri, çevresel faktörlerin hastalığı tetikleyebileceğini gösteren ikna edici bir kanıt olmuştur (Langston vd 1983).

Tüm bunların aksine bazı çevresel faktörler Parkinson hastalığının gelişimine karşı koruyucu olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda çay, kahve ve sigara tüketiminin Parkinson hastalığına yakalanma riskini azalttığı bildirilmektedir (Liou vd 1997, Hernán vd 2002).

2.2.3.2. Genetik Faktörler

PH etiolojisinde genetik faktörlerin potansiyel rolüne ilişkin yapılan çalışmalarda hastalık ile ilgili birçok gen tanımlanmıştır. Bu genlerde saptanan mutasyonlar proteinlerin işleyişinde bozukluk, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, gibi nedenlere yol açarak Parkinson hastalığına sebep olmaktadır. PH ile bağlantılı bu genlerden SNCA, LRRK2, VPS35'teki mutasyonlar, otozomal dominant PH formlarından sorumluyken; PRKN, PINK1, DJ1 genlerindeki mutasyonlar otozomal resesif bir kalıtım gösteren PH'den sorumludur (Zheng vd 2017, Shulskaya vd 2018).

2.2.3.2.1. Otozomal Dominant PH ile İlişkili Genler

2.2.3.2.1.1. PARK1/PARK4: Alfa-Sinüklein Geni (SNCA)

Otozomal dominant PH'ye neden olan bir gen olan SNCA, kromozom 4q21 üzerinde yer almaktadır (Polymeropoulos vd 1996). SNCA geni, PH patofizyolojisinde önemli rolü olan alfa-sinüklein proteinini kodlamaktadır (Abeliovich vd 2000). SNCA geninde PH ile ilgili; yanlış anlam mutasyonları duplikasyonlar ve triplikasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlara örnek olarak; A30P, A53T, and E46K verilebilir (Zarranz vd 2004, Krüger vd 1998, Pasanen vd 2014, Elia vd 2013, Fuchs vd 2007). A53T mutasyonu, otozomal dominant hastalığı olan geniş bir ailede tanımlanan ilk mutasyondur (Polymeropoulos vd 1997).

SNCA geninde duplikasyonu olan erken evre hastalar klasik, "idiyopatik" PH hastalarına benzeyen özellikler ile karakterize iken SNCA triplikasyonu olanlar; erken başlangıç, hızlı hastalık ilerlemesi, belirgin demans ve sık disotonomi ile karakterizedir (Fuchs vd 2007).

2.2.3.2.1.2. PARK8: Lösin Bakımından Zengin Tekrar Kinaz 2 Geni (LRRK2)

LRRK2 geni; lösin açısından zengin, protein-protein etkileşimlerinde rol oynayan ve protein kinaz aktivitesi gösteren "Dardarin" adlı proteini kodlamaktadır. Dardarin, çeşitli zar ve veziküler yapılar, zara bağlı organeller ve mikrotübüller ile ilişki içerisindedir (West vd 2005, Biskup vd 2006).

LRRK2 geni, ailesel PH'nin %10 kadarını ve sporadik PH'nin yaklaşık %4'ünü oluşturan en yaygın PH genidir (Paisan-Ruiz vd 2008). LRRK2 geninde çok sayıda mutasyon rapor edilmekle birlikte bu genin en yaygın mutasyonu G2019S'dir. Klinik

olarak, LRRK2 ile ilişkili PH geç başlangıç yaşı, belirti ve semptomları açısından sporadik PH ile ayırt edilemeyen özelliklerle ortaya çıkmaktadır (Bardien vd 2011, Healy vd 2008).

2.2.3.2.1.3. PARK17: VPS35, Retromer Kompleks Bileşen Geni (VPS35)

VPS35 geni kromozom 16q13-q21 ile eşlenmiştir (Zhang vd 2000) ve son zamanlarda geç başlangıçlı ailesel PH'nin bir nedeni olarak ortaya çıkmıştır. VPS35 proteini, retromer adı verilen kompleksin bir bileşenidir ve veziküler yapılar ile golgi aygıtı arasında seçili kargo proteinlerinin taşınmasından sorumludur (Zimprich vd 2011). VPS35 genindeki mutasyonların, kargo proteinlerinin taşınmadığı ve işlevsiz veya gereksiz proteinlerin parçalanamadığı anormal otofajiye neden olabileceği öne sürülmüştür (Seaman vd 1998). PARK-VPS35 baskın olarak düşük penetransla kalıtlı ve asimetric motor komplikasyonlarının varlığı ve levodopaya yanıt ile tipik PH'ye çok benzer bir fenotipe sahiptir (Bonifati 2014).

2.2.3.2.2. Otozomal Resesif PH ile İlişkili Genler

2.2.3.2.2.1. PARK2: Parkin RBR E3 Ubikuitin Protein Ligaz Geni (PRKN)

PARKN, SNCA geninden sonra monogenik PH ile ilişkilendirilen ikinci gendir. Otozomal resesif kalıtım paterni gösterir. PRKN'deki mutasyonlar juvenil Parkinson hastalığı vakalarının çoğundan sorumlu tutulmaktadır. Mutasyon taşıyıcıları erken yaşta ek olarak yavaş ilerleyen hastalık ve dopamin replasman tedavisine daha iyi bir yanıt ile karakterizedir (Klein ve Westenberger 2012).

PRKN geni, parkin proteinini kodlamaktadır. Bu proteinin E3 ubiquitin ligaz olduğu belirtilmiştir. E3 ubiquitin ligazlar substratların tanınmasını kontrol eder ve aynı zamanda ubiquitinasyon aktivitesini düzenler (Seirafi vd 2015). PRKN mutasyonları, E3 ubiquitin ligaz işlev bozukluğuna neden olmakta ve bu da özellikle *substantia nigra*'da nöronal toksisiteye neden olan proteinlerin birikmesine neden olmaktadır (Kalinderi vd 2016). Henüz tanımlanamayan protein birikiminin, Lewy cisimcikleri oluşmadan seçici bir nöral hücre ölümüne neden olduğu öne sürülmektedir (Shimura vd 2000).

2.2.3.2.2.2. PARK6: PTEN ile İndüklenen Kinaz 1 Geni (PINK1)

Klinik olarak PINK1 ile ilişkili PH hastaları; erken başlangıç yaşı, yavaş hastalık seyri, psikiyatrik bozukluklar ve levodopaya iyi yanıt ile karakterizedir (Bonifati 2014, Ricciardi vd 2014). Bugüne kadar, farklı tiplerde çok sayıda mutasyon rapor edilmiştir.

PRKN ile ilişkili PH'li hastaların aksine, PINK1 ile ilişkili PH'li hastalarda, *substantia nigra*'da nöronal kayıp ve Lewy cisimciklerinin (LB) varlığı görülebilmektedir (Aasly 2020).

PINK1 geninin ürünü bir serin/treonin protein kinazdır (Arena ve Valente 2017). Bu protein, kalp ve kaslarda en yüksek seviyelerde olmak üzere tüm vücuttaki hücrelerde bulunmaktadır. Fonksiyonel çalışmalar, PINK1'in mitokondriye lokalize olduğunu göstermektedir. PINK1'in hücreleri stres kaynaklı mitokondriyal disfonksiyondan koruduğu düşünülmekte ve hasarlı mitokondriyi tanımlayarak mitokondriyal kalite kontrolü sağlamaktadır (Gandhi vd 2006, Youle ve Narendra 2011).

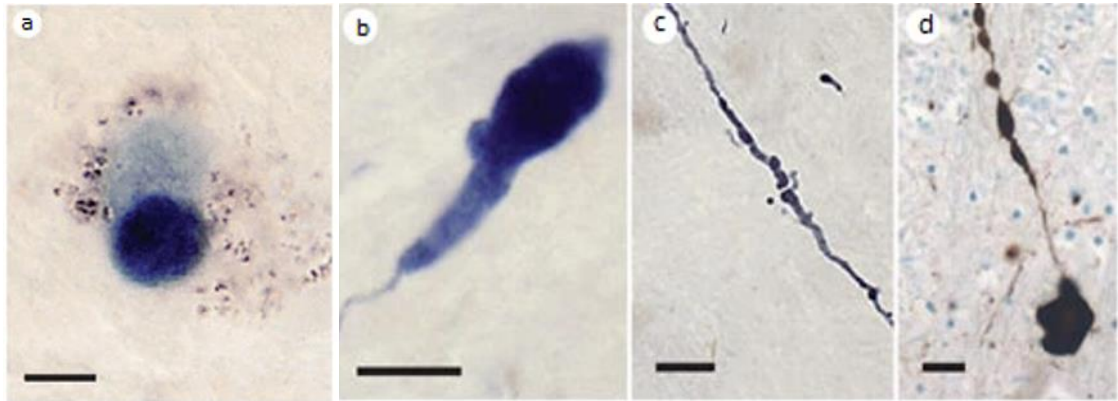
2.2.3.2.2.3. PARK7: Parkinsonizm ile İlişkili Deglikaz Geni (PARK7; DJ-1)

Gen, 1p36 kromozomunda lokalizedir ve 189 amino asitten oluşan bir proteini kodlamaktadır (Bonifati vd 2003). DJ-1 proteini, insan hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilmekte ve çoğunlukla sitozolde, çekirdekte ve mitokondride lokalize olmaktadır (Van der Merwe vd 2015, Wilhelmus vd 2012). DJ-1 ile ilişkili PH, PH'nin çok nadir görülen, erken başlangıçlı, resesif bir formudur. Çoğu hasta levodopaya iyi yanıt verir (Rizzone vd 2019). Oksidatif bir koşul altında DJ-1, şaperon aktivitesi göstererek alfa-sinükleinin agregasyonunu inhibe eder. Böylece şaperon molekülü olarak hizmet edebilmekte ve nöronları oksidatif strese karşı bir sensör görevi görerek nöronları oksidatif strese ve hücre ölümüne karşı korumaktadır (Shendelman vd 2004, Zhou vd 2006).

2.2.4. Parkinson Hastalığı Patogenezi

PH'nin patolojik belirleyicisinden ilki, *substantia nigra* pars compacta'da dopaminerjik nöron kaybıdır (Damier vd 1999). Dopamin insanlarda ve hayvanlarda beyne ait birçok fonksiyonun yerine getirilmesinde öneme sahip bir nörotransmitterdir. PH semptomlarının görülmesi için bu dopaminerjik nöronların %70-80'nin kaybedilmesi gerekmektedir (Schapira 1999).

PH'nin ikinci patolojik belirleyicisi, alfa-sinükleinin ana bileşen olduğu Lewy cisimcikleri (Şekil 1) olarak adlandırılan fibriler agregatların varlığıdır (Wakabayashi vd 2013). Lewy cisimcikleri ilk kez 1912 yılında Friederich H. Lewy tarafından tanımlanmıştır. Lewy cisimcikleri, Parkinson hastalarının beyin sapında, *substantia nigra*'nın nöromelanin içeren nöronlarının sitoplazmasında yer alan küre biçiminde inklüzyonlar olarak tanımlanmıştır (Pollanen vd 1993).



Şekil 1. *Substantia Nigra*'nın Dopaminerjik Sinir Hücrelerinde Lewy Cisimcikleri (Braak ve Tredici 2009).

SNCA genindeki duplikasyon veya triplikasyonlar, alfa-sinüklein seviyesinin artmasına neden olmaktadır (Fuchs vd 2007). Alfa-sinüklein proteini ubiquitin ile bağlanmış ve fosforile olarak çözünmez fibriler yapıda bulunur. Presinaptik terminallerde yoğun olarak bulunan bu proteinin nörotransmitter vezikül fonksiyonunu modüle ettiği düşünülmektedir (Braak vd 200).

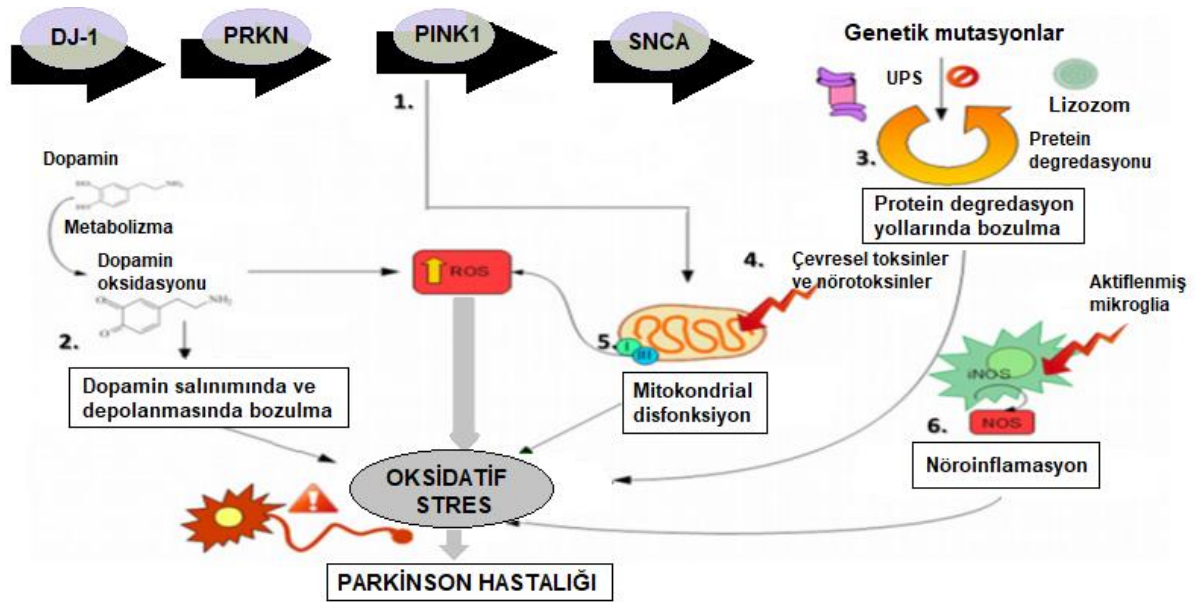
PH'nin patogenezinde alfa-sinüklein kümelenmesi, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, kalsiyum homeostazı ve nöroinflamasyon gibi çeşitli mekanizmaların birleşik etkisi, *substantia nigra*'da dopaminerjik nöronların ölümüne neden olarak PH gelişimini desteklemektedir (Michel vd 2016).

2.2.4.1. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres

Mitokondri, kalsiyum dengesi, hücre çoğalması, apoptozun düzenlenmesi, enerji üretimi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (Yeniçeri 2020). ROS'lar oksijenden türeyen serbest radikallerdir (Bolisetty ve Jaimes 2013).

ROS üretimi, elektron taşıma zincirinin bileşiği olan kompleks 1 ve 3'ün hasarına sebep olmakta böylelikle mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stresin (OS) artmasına neden olmaktadır. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin biyolojik bir sistemin reaktif ara maddeleri kolayca detoksifiye etme veya ortaya çıkan hasarı onarma yeteneği arasındaki dengesizliği yansıtmaktadır. Sonuç olarak oksidatif stres artışı hücre içi bileşenlerin zarar görmesine ve çeşitli hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır (Moon ve Paek 2015, Engelhardt 1999).

PH'nin sık görülen Parkin, PINK-1 ve DJ-1 gibi otozomal resesif formlarında meydana gelen mutasyonlar ile mitokondriyal kalite ve kontrolün bozulduğu gösterilmiştir (Henchcliffe ve Beal 2008). Ayrıca hücrelerdeki hasarlı ve anormal proteinleri uzaklaştıran ubiquitin-proteazom sistemi (UPS), PH patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 2). PH'li tüm hastalarda gözlenen intranöronal alfa-sinüklein protein agregatlarının UPS ve lizozomal otofaji sisteminin etkisi ile bozulduğu bilinmektedir (Xilouri vd 2013). Ubiquitin karboksi-terminal hidrolaz L1 (Uchl1), PH'nin ubiquitin-proteazom sisteminde yer alan bir genidir ve lncRNA UCHL1-AS1, UCHL1 proteininin sentezini artırarak, UCHL1 proteininin translasyonunu doğrudan etkiler ve UPS'nin bozulmasına yol açar (Carrieri vd 2015, Osaka vd 2003).



Şekil 2. Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres Patogenezi (Küçükali vd 2017).

2.2.4.2. Eksitotoksisite

Glutamat merkezi sinir sisteminin en önemli nörotransmitter maddesidir. Nörotransmitterler kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak, nöronların uyarılmasına neden olmaktadır. Glutamat; Sinaptik plastisite, öğrenme, hafıza ve diğer bilişsel işlevleri içeren çeşitli fizyolojik süreçlerde, nöronal göç ve farklılaşmada, akson oluşumunda önemli görev almaktadır (Gasic ve Hollmann 1992). Glutamatın beyin fonksiyonlarında önemli rol oynamasına rağmen merkezi sinir sistemindeki yüksek konsantrasyonu ve glutamat reseptörlerinin uzun süreli uyarılması nöronlarda hasara veya ölüme neden olmakta ve bu nörotoksik olaya 'eksitotoksisite' adı verilmektedir (Lipton ve Rosenberg 1994, Song vd 2017). Glutamatın yol açtığı toksisite;

huntington, alzheimer, parkinson gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Jia vd 2016, Mehta vd 2013).

2.2.4.3. Mikroglial Aktivasyon ve İnflamasyon

Nöroinflamasyon, PH'nin patolojisinde karakteristik özelliklerden biridir (Kalia ve Lang 2015). Yapılan çalışmalar inflamasyona "nöroglia" olarak da bilinen gliyal hücreler (mikroglia ve astrositler) ve bağışıklık hücreleri tarafından oluşturulan sitokinler, kemokinler ve ROS'lar gibi moleküller aracılık etmektedir (DiSabato vd 2016). Mikroglia hücreleri myleoid hücre kökeninden gelen merkezi sinir sistemi hücreleridir. En kritik görevlerinden biri zarar gören hücre ve yabancı madde fagositozunun sağlanmasıdır (Liu ve Hong 2003). Fakat inflamasyon kontrol edilemezse bu sefer normal hücre ve dokuların yıkımına sebep olmaktadır. Bu durum Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Bu hastalıklarda olduğu gibi hasarlı nöronların sürekli varlığı mikroglia ve astrosit gibi hücrelerin aktivasyonuna sebep olur (Amor vd 2010, Fischer ve Maier 2015). Mikrogliaların aşırı aktivasyonu proinflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi zararlı maddelerin salınmasına neden olarak dopaminerjik nöron dejenerasyonuna neden olmaktadır (Taşdemir 2019). Nöroinflamasyon toplumda en sık görülen Alzheimer hastalığı, PH, Huntington hastalığı (HH) ve Amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi birçok nörodejeneratif hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır (Carson vd 2006, Amor vd 2010).

2.2.5. Parkinson Hastalığı Tanı ve Tedavi

PH tanısı bradikineziye ek olarak istirahat tremoru, rijidite veya postural instabiliteden bir tanesinin birlikte görülmesi şeklinde en az iki motor semptomun tanımlanmasıyla konmaktadır (De Rijk vd 1997). PH tanısı diğer ilerleyici supranükleer felç, çoklu sistem atrofisi ve kortikobazal dejenerasyon gibi atipik parkinson bozukluklarına benzerlik göstermektedir. Bu hastalıklar, özellikle hastalığın erken evrelerinde semptomların örtüşmesi olması nedeniyle yanlış tanı riski yüksektir ve erken dönemde ayırıcı tanının detaylı yapılması önemlidir (Litvan vd 2003).

Hastalığın yavaş seyri, semptom ve bulgularının asimetric başlaması ve özellikle levodopa yanıtının olması gibi birçok özelliğine dayanılarak, diğer parkinsonizmlerden klinik olarak ayırt edilmektedir (Hughes vd 2002). Günümüzde klinik PH tanısı "Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası Klinik Tanı Kriterleri"ne dayanarak konulmaktadır (Gibb ve Lees 1988).

Yakın bir tarihte Hareket Bozuklukları Cemiyeti (Movement Disorders Society - MDS) tarafından Parkinson hastalığı için yeni tanı kriterleri önerilmiştir. Bu tanı kriterlerinde Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası kriterlerinde yer alan postural instabilite ana bulgulardan çıkarılarak PH tanısı için ana kriter, bradikineziye rijidite ya da tremordan en az birinin eşlik etmesi olarak tanımlanmıştır (Postuma vd 2015).

Birleşik Krallık PH Derneği Beyin Bankası Tanı Kriterleri.

1. Adım- Parkinsonizm teşhisi

Bradikinezi ve aşağıdaki kriterlerden en az biri

- a. Rijidite
- b. 4-6 Hz istirahat tremoru
- c. Primer görsel, vestibüler, serebellar veya derin duyu ile ilgili işlev bozukluğundan kaynaklanmayan postural instabilite.

2. Adım- PH için dışlama kriterleri

- a. Tekrarlayan kafa travması öyküsü
- b. Tekrarlayan inme anamnezi ve parkinsoniyen özelliklerin basamaklı ilerlemesi
- c. Kesin ensefalit öyküsü
- d. Okulojirik krizler
- e. Semptomların başlangıcında nöroleptik tedavi
- f. Birden fazla etkilenen akraba
- g. Süreğen remisyon
- h. Üç yıl sonrasında belirtilerin tek taraflı devam etmesi
- i. Supranükleer bakış felci
- j. Erken şiddetli otonomik tutulum
- k. Serebellar belirtiler
- l. Hafıza, dil ve praksis bozuklukları ile erken şiddetli demans
- m. Babinski'nin işareti
- n. Bilgisayarlı tomografik taramada bir beyin tümörü veya iletişim hidrosefali varlığı
- o. Yüksek dozlarda levodopaya olumsuz yanıt
- p. MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) maruziyeti

3. Adım- PH için aşağıdaki destekleyici kriterlerden en az üçü;

- a. Tek taraflı başlangıç
- b. İstirahat tremoru varlığı
- c. İlerleyici hastalık

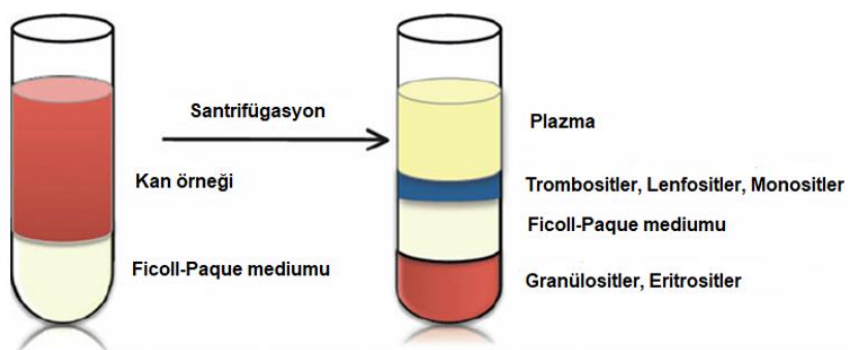
- d. Daha çok başlangıç tarafını etkileyen kalıcı asimetri
- e. Levodopaya tam yanıt (%70-100)
- f. Levodopanin tetiklediği şiddetli diskineziler
- g. Beş yıl veya daha uzun süre levodopaya yanıt

PH için tedavi hastalığın semptomlarını azaltmaya yöneliktir. İlaçlar PH'nin tedavisinde çok önemli bir yer tutmakla birlikte her hastada semptomlar ve şiddetleri farklı olabileceği için tedavi kişiye özel hazırlanmaktadır (Jankovic ve Tolosa 2002). Motor semptomların tedavisindeki temel amaç dopaminerjik etkinliğin artırılmasıdır. Levodopa, dopamin agonistleri, monoamin oksidaz-B inhibitörleri, amantadin, antikolinerjikler ve periferik dopamin blokerleri PH'nin tedavisinde kullanılan başlıca ilaçlardır (Park ve Stacy 2009).

Dopaminin kan beyin bariyerini geçememesinden dolayı hastaya dopamin ilaçları (dopamin agonistleri ve L-dopa) verilerek, oluşacak olan cevabın gözlenmesi en yaygın teşhis yöntemidir. İlerleyici, nörodejeneratif bir hastalık olan PH'nin nedeni tam olarak bilinmediği için hastalığı önleyebilecek veya ilerleyişi durduracak bir tedavi yaklaşımı bulunmamaktadır. PH'de tedavinin amacı hastalığa bağlı ortaya çıkan semptomları kontrol altına almak ve yaşam kalitesini artırmaktır (Lees vd 2009).

2.3. PH'de Periferik Kan-Mononükleer Hücreler (PBMC'ler)

Periferik kan mononükleer hücresi (PBMC), yuvarlak çekirdeğe sahip, lenfositleri (T hücreleri, B hücreleri ve NK hücreleri), monositleri ve dendritik hücrelerini içeren, insan vücudunun bağışıklığındaki ana hücrelerdir (Pourahmad ve Salimi 2015). Bu hücreler gradyan santrifüjü kullanılarak tam kandan ekstrakte edilebilir ve tüm kan iki fraksiyona ayrılır; üst fazda kalan PBMC'ler, alt fazda ise yüksek yoğunluktaki eritrositlerdir (Şekil 3).



Şekil 3. PBMC İzolasyonunda Fazların Oluşumu (Bharadwaj vd 2012).

Spesifik hücrel organizasyonları nedeniyle kan hücreleri, beyin gibi vücuttaki çoğu dokuya bağlanmaktadır (Soreq vd 2014). Hücreler ve dokular tarafından eksprese edilen biyobelirteçler, PH ilerlemesinin altında yatan patolojik süreçleri yansıtmaktadır. Bu biyobelirteçler kan, idrar ve hatta beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi vücut sıvılarında bulunabilmektedir (Gwinn vd 2017). PH'de en çok etkilenen bölge substantia nigra'dır. PH araştırmalarında insan ölüm sonrası çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalarda ölüm sonrası beyin dokusu elde etmek kolay olmamakla birlikte kan lökositlerini elde etmek kolaydır ve onlardan yüksek kalitede RNA elde edilebilmektedir (Atz vd 2007, Soreq vd 2013).

Düzenleyici T hücreleri (Treg'ler), bağışıklık tepkisini bastırmak için hareket eden, böylece homeostazı koruyan T hücrelerinin özel bir alt popülasyonudur. Yapılan çalışmalarda Treg disfonksiyonunun, nöroinflamasyonu artırarak veya nöronal antijenlere karşı toleransı azaltarak PH patogeneziye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Kannarkat vd 2013, Saunders vd 2012). Yapılan bir çalışmada periferik T hücrelerinin Parkinson hastalarında nöronal hasar bölgesinde beyin parankimine sızdığı ve CD4 + ve CD8 + T lenfositlerinin nörodejenerasyona katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Brochard vd 2009).

2.4. Kodlamayan RNA'lar (ncRNA)

İnsan genomunun büyük bir kısmı seçici olarak kopyalandığı halde, transkriptlerin yalnızca %1-2'lik kısmının kodlanarak proteine translasyonu gerçekleşmektedir. Protein kodlamayan RNA transkriptleri olan Kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar), başlangıçta insan genomunun "fonksiyonel olmayan parçaları" ve/veya "çöp RNA'ları" olarak tanımlanmaktaydı. Ancak artık bu transkribe olan fakat proteine dönüşme potansiyeli bulunmayan kodlamayan bölgelerin de epigenetik düzeyde, transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası seviyelerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde işlev gördükleri kesinleşmiştir (Lander vd 2001, Peschansky ve Wahlestedt 2014, Zhang vd 2019).

Kodlamayan RNA'lar uzunluklarına göre; 200 nükleotitten daha kısa olanlar kısa kodlamayan RNA'lar ve 200 nükleotitten uzun olanlar uzun kodlamayan RNA'lar olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Kısa kodlamayan RNA'lar; mikroRNA (miRNA), small interfering RNA (siRNA), piwi-ilişkili RNA (piRNA)'ları içermektedir (Zhang vd 2019).

Kodlamayan RNA'lar çeşitli hastalıkların patogeneğinde anahtar faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser oluşumu ve gelişiminde, kardiyolojik, nörolojik, inflamatuvar hastalıklardan kromozom anomalilerine kadar geniş hastalık grubunda önemli roller oynamaktadırlar (Lyu vd 2019). Merkezi sinir sisteminde eksprese edilen ve nörodejeneratif bozuklukların patofizyolojisinde yeni bir biyobelirteç ve terapötik hedef grubunu temsil eden ncRNA'ların; apoptoz ve mitokondriyal disfonksiyon gibi nörodejenerasyonda yer alan birkaç sinyal yolunu düzenlediği gösterilmiştir (Niu vd 2016, Kim vd 2016).

2.5. Uzun Kodlamayan RNA'lar (LncRNA)

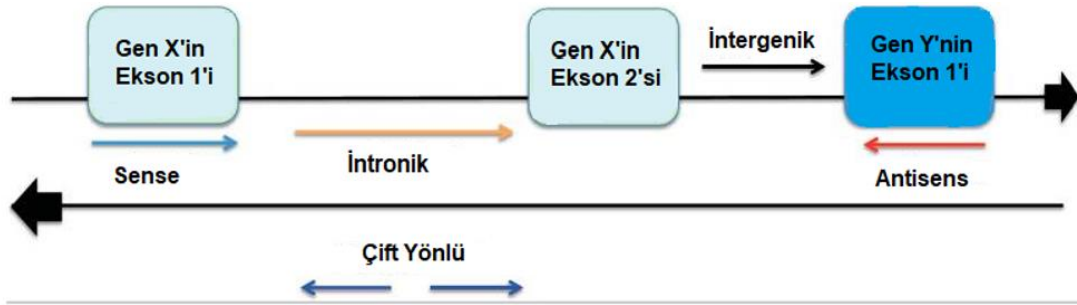
Kodlamayan RNA'lardan lncRNA'lar, genlerin ekspresyon seviyelerinin transkripsiyonel, post-transkripsiyonel ve epigenetik düzeyde düzenlenmesinde (Fatica ve Bozzoni 2013, Mercer vd 2009) ayrıca gelişim ve farklılaşma gibi süreçleri kontrol etmede önemli rollere sahiptir (Klattenhoff vd 2013). Ayrıca lncRNA'ların doku spesifik ekspresyonları bilinmektedir. LncRNA'lar farklı dokularda farklı ekspresyon seviyelerine sahip olmalarına ek, aynı dokunun farklı bölümlerinde farklı ekspresyon modellerine de sahiptir (Cabili vd 2011, Han vd 2012). LncRNA'ların çeşitli patolojik durumlarda ifade düzeylerinde meydana gelen değişimler onları terapötik hedef ve biyobelirteç adayları haline getirmektedir (Kumarswamy vd 2014).

200 nükleotidin üzerinde baz uzunluğuna sahip lncRNA'lar, mRNA'lar gibi RNA Polimeraz II tarafından kopyalanmakta ve genellikle 3'-poliadenilasyon ve 5'-cap işlenmesi gibi transkripsiyonel düzenlemeye tabi tutulmaktadır. LncRNA'lar mRNA'lar gibi bir açık okuma çerçevesine (Open Reading Frame= ORF) sahip değildir ve mRNA'lara kıyasla daha az ve daha uzun eksonlar içermektedirler (Lin vd 2011, Derrien vd 2012).

LncRNA'ları protein kodlayan genlerin konumlarına göre 5 gruba ayrılmaktadır (Şekil 4) (Lyu vd 2019, Mercer vd 2008);

1. Sense lncRNA'lar: protein kodlayan genlerle örtüşen lncRNA dizileri;
2. Antisens lncRNA'lar: protein kodlayan genlerin antisens dizileriyle örtüşen lncRNA dizileri;
3. Çift yönlü lncRNA'lar: protein kodlayan genlere göre farklı çift yönlü promotörlerden kopyalanan lncRNA dizileri;
4. İtronik lncRNA'lar: Protein kodlayan genlerin intronlarından kopyalanır;

5. İntergenik lncRNA'lar: iki protein kodlayan genler arasında yer alan ancak bunlarla örtüşmeyen lncRNA dizileri.



Şekil 4. Lokalizasyonlarına Göre lncRNA'lar (Mercer vd 2008).

lncRNA'lar sitoplazmada ve çekirdeğin kromatin bölümlerinde yoğun olarak bulunmaktadır (Derrien vd 2012). Ayrıca ribozom, mitokondri gibi diğer hücre içi bölümlerine de lokalize olabilmektedirler. lncRNA'lar beyindeki çeşitli bölgelerde eksprese edilmekte (Qureshi vd 2010) ve merkezi sinir sistemi gelişimi ve işlevinde kilit roller oynamaktadırlar (Ng vd 2013). lncRNA'ların mutasyonu ve anormal düzenlenmesinin kanser ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Sunwoo vd 2017, Yuan vd 2016).

lncRNA'lar çekirdekte, spesifik olarak gen susturulmasını indükleyebilirler (Fatica ve Bozzoni 2013). Sitoplazmada, miRNA ekspresyonunu modüle etmek için rekabetçi endojen RNA'lar (ceRNA'lar) olarak hizmet edebilirler (Zhang vd 2018, Cheng vd 2019). Ayrıca mRNA'ları doğrudan veya dolaylı olarak hedefleyerek transkripsiyonel aktiviteyi kontrol edebilirler (Lee vd 2017).

lncRNA'lar gen ekspresyonunu düzenlemek için DNA, RNA veya protein molekülleri ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşimler sonucu lncRNA'lar; ribonükleoprotein kompleksleri oluşturmak ve gen ifadesini düzenlemek için çoklu proteinleri bir araya getiren iskeleler olarak işlev görmektedirler (Wang ve Chang 2011, Guttman ve Rinn 2012).

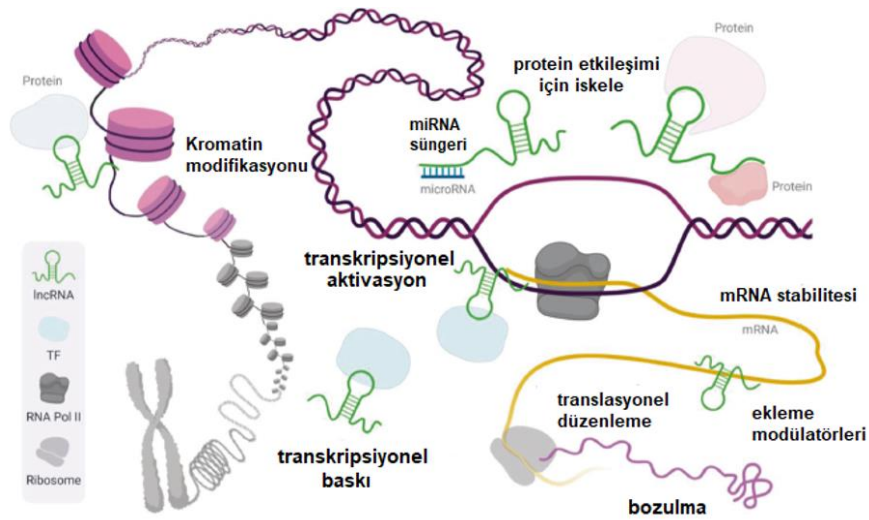
lncRNA bir merkezi platform olarak hareket edebilmekte ve çok sayıda molekül ve proteinin etkileşimini kolaylaştırabilmektedir. lncRNA'ların yapı iskelesi özellikleri, farklı tipteki makromoleküler komplekslerin birleştirilmesini mümkün kılar, böylece farklı sinyal yolları arasında bilginin entegrasyonunu teşvik etmektedir (Wu vd 2016, Spitale vd 2011). En önemli yapı iskelesi lncRNA'larından biri, 17 kb uzunluğa

sahip olan ve dişilerde bastırılmak üzere X kromozomu tarafından kodlanan X-etkin olmayan spesifik transkript (Xist) RNA'dır. Xist, dişilerde bir X kromozomunun gen ekspresyonunu baskılayan ve böylece memelilerde bir doz telafi rolüne sahip olan polcomb baskılayıcı kompleks 1 (PRC1) ve PRC2 komplekslerinin alımını sağlar (Colognori vd 2019, Bousard vd 2019).

Sinyal olarak işlev gören lncRNA'lar, çeşitli uyarılara yanıt verir ve bu şekilde transkripsiyonu düzenlemektedir. Bu lncRNA'lar gen ve allele özgü ifadenin düzenlenmesinde görev almakta ayrıca kromatin modifiye edici enzimler ile genlerin transkripsiyonel susturulmasını sağlamaktadırlar. Bu susturma, yakın genler için cis'de veya uzak genler için trans olarak meydana gelebilmektedir. Cis düzenlemesi, hedef genlerinin yakınında bulunan lncRNA'ları belirtirken, trans düzenlemesi, hedef genlerinden uzakta bulunan lncRNA'ları belirtmektedir (Devaux vd 2015).

Tuzak fonksiyonu gösteren lncRNA'lar, düzenleyici faktörleri spesifik hedeflerinden ayırmaktadır. Düzenleyici faktörler ya transkripsiyon faktörleri ve kromatin değiştirici enzimler gibi RNA bağlayıcı proteinler ya da miRNA'lar gibi RNA dizileridir. Bu düzenleyici faktörlere bağlanan lncRNA'lar transkripsiyonu baskılamaktadır. lncRNA'lar miRNA'lar için tuzak görevi görmektedir. miRNA'ların ve proteinlerin süngerleri gibi davranarak onların hedeflerine bağlanmasını önleyebilirler (Şekil 5) (Wang vd 2014, Spitale vd 2011, Devaux vd 2015).

lncRNA'lar, belirli proteinlerin hedef bölgelerine ulaşmalarında ve biyolojik işlevlerini yerine getirmelerinde yardımcı roller üstlenmekte ve bu şekilde kılavuz moleküller olarak hareket edebilmektedirler. Yönlendirici moleküller olarak, lncRNA'lar genellikle 'cis düzenlemesi' yoluyla komşu mRNA'ların transkripsiyonunu düzenleyebildiği gibi uzak mRNA'ların transkripsiyonunu düzenleme kapasitesi ile karakterize edilen 'trans düzenleme' yoluyla da gen ekspresyonunu düzenleyebilmektedirler (Gao vd 2020).



Şekil 5. LncRNA'ların Patolojik Fonksiyonları (Yang vd 2021).

LncRNA'lar, stres koşullarının oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkilidir. LncRNA'lar, hücrenin hayatta kalması veya apoptoz süreci ile ilişkili sinyalleri etkinleştirerek hücrel homeostazi sürdürmek için strese yanıt verir. Çalışmalar, lncRNA'ların insan kaynaklı pluripotent kök hücrelerde kimyasal stres tepkilerinin alternatif göstergeleri olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Tani vd 2014). Liu vd (2015) yaptıkları çalışmalarında genotoksik stres sırasında lncRNA ekspresyon seviyelerinin değiştiğini ve bu lncRNA'ların bireysel genotoksik ajanlara karşı hücrel savunma mekanizmalarında rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

2.6. LncRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi

LncRNA'ların transkripsiyon, post-transkripsiyon ve protein kodlayan genlerin bazal düzenlenmesinde rollerinin olduğu bilinmektedir. LncRNA'ların aşırı ekspresyonu, eksikliği veya mutasyonu, birçok insan hastalığına neden olmaktadır. Lösemi, kolon, prostat, meme kanserleri, hepatoselüler karsinoma, sedef hastalığı ve Alzheimer gibi birçok hastalık lncRNA'ların düzensiz ekspresyonları ile ilişkilendirilmektedir (Taft vd 2010, Qi ve Du 2013).

Uzun kodlamayan RNA'lar, tümör baskılayıcılar, onkogenler veya terapötik potansiyelleri gibi davranan farklı özelliklere sahiptir. Karmaşık yapıları ve çok bileşenli komplekslere dahil olabilmeleri, bu farklılıkların ana nedeni olarak düşünülmektedir. Bir doku veya hücre tipine özgü gen ekspresyonunda değişiklik gösteren lncRNA'ların, çeşitli kanser türlerinde hem tümör baskılayıcı hem de onkojenik roller oynadığı gösterilmiştir (Meng vd 2016, Inamura 2017).

XIST lncRNA'nın aşırı ekspresyonu, birçok tümörün gelişiminde rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada XIST, pankreas kanseri dokularında ve hücre dizisinde yüksek oranda eksprese edildiği bulunmuştur. Ayrıca XIST'in miR-140/miR-124 aracılığıyla hücre döngüsünde rol oynadığı, böylece pankreas karsinomunda büyümeyi destekleyen bir onkojenik lncRNA olabileceği belirtilmiştir (Liang vd 2017).

Diğer çalışmalarda, HOTAIR'in trans-etkili bir lncRNA gibi davrandığını ve meme kanseri, akciğer kanseri ve mide kanseri ile ilişkili olduğu, (Lin vd 2017, Ishibashi vd 2013) aşırı ekspresyonunun, metastazın daha fazla alana yayılmasına neden olabileceği ve mide kanserinde dokularda kanser hücrelerinin çoğalmasını teşvik edebileceği bildirilmiştir (Chen vd 2017).

2.6.1. Metastazla İlişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1 (MALAT1)

Metastazla ilişkili akciğer adenokarsinomu transkript 1 (MALAT1), PH ile bağlantılı çeşitli fizyolojik özelliklere sahip bir lncRNA'dır. Yapılan çalışmalarda Malat1, alfa-sinüklein protein stabilitesini artırarak ve nöroprotektif bir miRNA görevi gören miR-124'ü inhibe ederek PH patogenezinde yer almaktadır (Liu vd 2017, Zhang vd 2016). Ayrıca Malat1 hem *in vitro* hem de *in vivo* PH modellerinde nöronal apoptozu artırmaktadır (Liu vd 2017).

LncRNA MALAT1, LRRK2'yi hedefleyen miR-205-5p'yi inhibe ederek MN9D hücrelerinin MPP + kaynaklı apoptozunu düzenlemektedir (Chen vd 2018). LncRNA-UCA1'in yıkılması kaspaz-3 aktivitesini inhibe ederek MPP + kaynaklı SH-SY5Y hücre apoptozunu azaltır (Lu vd 2018). LncRNA NEAT1, miR-124'ü hedefleyerek MPP + kaynaklı SH-SY5Y hücre apoptozunu düzenlemektedir (Xie vd 2019).

2.6.2. Ubiquitin Karboksil Terminal Hidrolaz L1 (UCHL1)

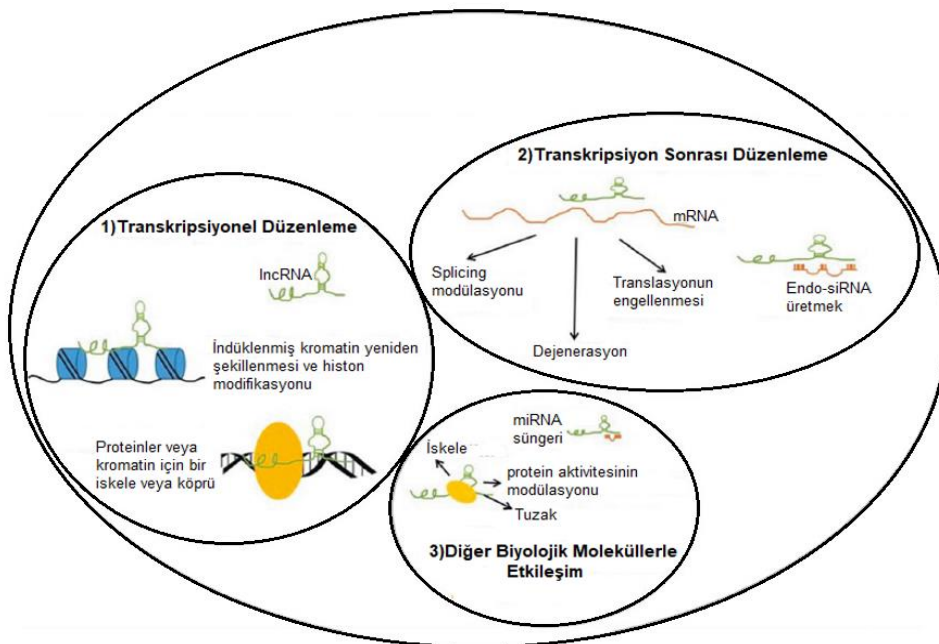
Ubiquitin karboksil-terminal hidrolaz L1 (UCHL1), nöronlarda bol miktarda eksprese edilen bir deubiquitinating (DUB) enzimidir. Bu enzim, ubiquitin monomerinin üretiminde ve stabilizasyonunda kritik roller oynamaktadır. UCHL1'in I93M, E7A ve S18Y polimorfizmleri gibi varyantları rapor edilmiştir. Bu varyantların erken başlangıçlı PH ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Healy vd 2006, Liu vd 2002, Maraganore vd 2004). Bir lncRNA olarak sınıflandırılan UCHL1 antisens RNA 1 (UCHL1-AS1), substantia nigra'nın striatumunda yüksek oranda eksprese edilmektedir (Riva vd 2016).

Ubiquitin-proteazom sistemi, hücrelerdeki mutant, hasarlı ve anormal proteinleri uzaklaştıran, hücre döngüsü DNA hasarını düzenleyen ve apoptozu onaran

lizozomal olmayan bir protein bozunma yoludur. UPS disfonksiyonu, hücre içinde anormal protein birikimi ile sonuçlanır ve mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve diğer faktörlerle sinerjistik olarak hareket ederek PH patogenezinde önemli bir rol oynar (Riva vd 2016, Kudriaeva ve Belogurov 2019). Ubiquitin karboksi-terminal hidrolaz L1 (Uchl1), PH'nin ubiquitin-proteazom sisteminde yer alan bir gendir ve lncRNA UCHL1-AS1, UCHL1 proteininin sentezini artırarak, UCHL1 proteininin translasyonunu doğrudan etkilemekte ve UPS'nin bozulmasına yol açmaktadır (Carrieri vd 2015, Osaka vd 2003).

2.7. PH'de LncRNA'lar

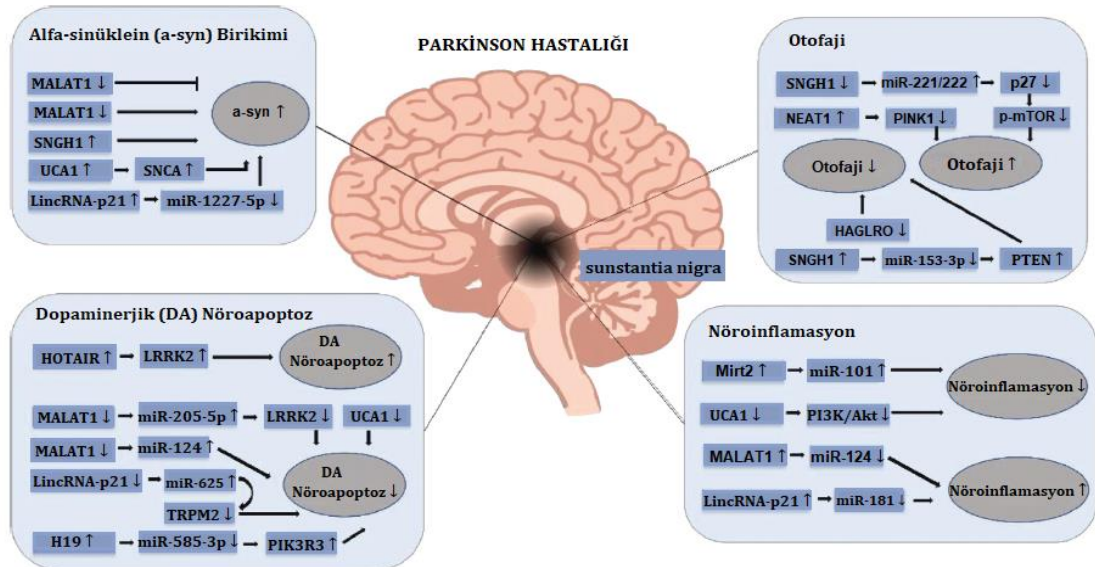
LncRNA'lar PH'de epigenetik düzeyde, transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası seviyelerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde işlev görmektedirler. Çekirdekte gen ve genom aktivitesini düzenleyen lncRNA'lar kromatin yeniden şekillenmesini ve kromatin modifikasyonunu indükleyerek transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde işlev görmektedirler. Transkripsiyon sonrası düzenlemede lncRNA'lar, spliceosome'un ek yerlerini bloke etmek için mRNA ile birleştirilmekte ve bu durum mRNA dejenerasyonu veya translasyonun engellenmesi ile sonuçlanmaktadır. Diğer biyolojik moleküllerle etkileşimlerinde DNA-RNA-protein komplekslerinin oluşumuna izin vermek için iskele görevi görürler ve ayrıca spesifik protein ortaklarına bağlanıp onları hedeflerinden ayırmakta ve protein lokalizasyonunu değiştirmek için bir tuzak görevi görmektedirler (Şekil 6) (Lyu vd 2019).



Şekil 6. LncRNA'ların İşlevleri (Lyu vd 2019).

LncRNA'lar gen ekspresyonunu hem aktive ederek hem de baskılayarak hareket edebilmekte ve PH bağlantılı genlerin düzenlenmesinde anahtar bileşen olarak karşımıza çıkmaktadır (Coupland vd 2016, Carrieri vd 2015). Yapılan çalışmalarla ailesel PH ile ilişkili bulunan genler arasında; alfa-sinüklein (SNCA), lösin bakımından zengin tekrar kinaz 2 (LRRK2), parkin RBR E3 ubiquitin protein ligaz (PRKN), fosfataz ve tensin homologu (PTEN) ile indüklenen kinaz 1 (PINK1) genleri bulunmaktadır (Klein ve Westenberger 2012). Bu genlerdeki mutasyonlar, nöronal dejenerasyona ve PH patogenezine yol açmaktadır (Farrer 2006).

Artan bilimsel veriler, lncRNA'ların PH'li hastalarda zaman içinde farklı şekilde eksprese edildiğini göstermektedir. PH gelişimini destekleyen mekanizmalar olan alfa sinüklein birikimi, apoptoz, otofaji ve nöroinflamasyon gibi biyokimyasal olaylar ile ilişkili olarak çeşitli lncRNA'lar gösterilmiştir. Bunlar arasında alfa sinüklein birikimi ile ilişkili MALAT1, UCA1 gibi lncRNA'lar yer alırken dopaminerjik apoptozla ilişkili olan lncRNA'lar arasında; HOTAIR MALAT1, lincRNA-p21, otofaji ile ilişkili lncRNA'lar arasında; SNGH1 NEAT1, nöroinflamasyon ile ilişkili lncRNA'lar arasında; Mirt2, UCA1 MALAT1 yer almaktadır (Şekil 7) (Lv vd 2020). LncRNA'ların değişmiş ifadesi Soreq vd (2015) tarafından PH lökositlerinde tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda MAPT-AS1 ve UCHL1-AS1'in sırasıyla MAPT ve UCHL1 genlerinin ekspresyon seviyelerini etkilediği bildirilmiştir (Coupland vd 2016, Carrieri vd 2015). Elkouris vd (2019) bir dizi lncRNA'nın, SNCA, LRRK2, PINK1, DJ-1, UCH-L1, MAPT ve GBA1 gibi PH'ye bağlı genlerin ekspresyonunu değiştirebileceğini ve böylece PH'den etkilenen beyin bölgeleri ile spesifik lncRNA'lar arasında bir korelasyon oluşturduğunu göstermiştir.



Şekil 7. Parkinson Hastalığı ile ilişkili lncRNA'lar (Lv vd 2020).

2.7.1. Nükleer Parabenek Düzeneci Transkript 1 (NEAT1)

Son zamanlarda, PH'nin *substantia nigra*'sında aşırı eksprese edilen lncRNA NEAT1'in ilaca bağlı oksidatif strese karşı nöroprotektif bir rol oynadığı gösterilmiştir (Simchovitz vd 2019). Yapılan bir çalışmada PH'nin 6-OHDA sıçan modelinde, lncRNA UCA1'in aşağı regülasyonu, PI3K/Akt sinyal yolunu inhibe ederek dopaminerjik nöronların hasarında ve ayrıca PH ile ilişkili oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtta bir azalma ile sonuçlanmıştır (Cai vd 2019). Başka bir çalışmada, PH'nin MPP + ile indüklenen SH-SY5Y hücre modelinde, lncRNA-p21 yıkımı, MPP + tarafından indüklenen sitotoksikite ve apoptozu zayıflatmakta ve ROS üretimini, oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu azaltmaktadır (Ding vd 2019).

(PINK1), mitokondriyal membran bölmesinde endojen olarak bulunmaktadır. PH ile ilgili bir gen olan PINK1'in etkisinin, mitokondriyal serin/treonin kinazla ilgili oksidatif stres kaynaklı hasar koruma mekanizmasıyla açıklandığı belirlenmiştir. PINK1'in kusurlu mitokondriyal yüzeyde birikmesi, belirli bir otofaji sürecini tetiklemektedir (Chu 2010).

NEAT1, PINK1'in stabilizasyonunu artıran ve dolayısıyla hücre kalite kontrol mekanizmasını destekleyen bir lncRNA'dır (Yan vd 2018). Yapılan çalışmalarda, PH hastalarının periferik kan hücrelerinde NEAT1 seviyelerinin önemli ölçüde artmış ifadeye sahip olduğu keşfedilmiştir (Boros vd 2020). lncRNA NEAT1, PINK1 proteininin bozulmasını önleyerek PH'de MPTP kaynaklı otofajiyi destekler (Yan vd 2018).

2.7.2. Homeobox (HOX) Transkript Antisens RNA (HOTAIR)

Homeobox (HOX) transkript antisens RNA (HOTAIR), HOXC genetik lokusunda bulunan epigenetik düzenleyici ve onkogenik rolü açısından önemli bir lncRNA'dır (Gupta vd 2010). Yapılan çalışmalarda, HOTAIR ifadesinin orta beyindeki dopaminerjik nöronlarda otofajiye neden olduğu ortaya çıkmıştır. HOTAIR, miR-126-5p'yi de düzenlemekte ve ceRNA'ya bağımlı bir şekilde PH ilerlemesine yol açmaktadır (Lin vd 2019). Ayrıca HOTAIR'ın, LRRK2 ekspresyonunun artışına neden olarak Parkinson hastalığını desteklediği bildirilmiştir (Wang vd 2017).

2.7.3. Mikrotübül İlişkili Protein Tau (MAPT)

Mikrotübülle ilişkili protein tau (MAPT) geni, hücrenin yapısal çerçevesini (hücre iskeleti) oluşturan katı, içi boş lifler olan mikrotübüllerin birleştirilmesinde ve

stabilize edilmesinde rol oynamaktadır (Tobin vd 2008, Coupland vd 2016).

MAPT geni PH'de patolojik bir etkiye sahiptir. Bu gen promotör bölgesinde DNA metilasyonuna uğramakta ve böylece gen ekspresyonunun azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca MAPT ayrıca nörofibriler yumaklarda biriken agregatlar oluşturarak PH ilerlemesinde bir rol oynadığı gösterilmiştir (Das vd 2009, Li vd 2014).

MAPT geni, aksonal hücre iskeleti stabilitesinde rol oynayan sporadik PH'ye duyarlılık geninde yer almıştır (Tobin vd 2008, Coupland vd 2016). MAPT-AS1'in MAPT gen ekspresyonu seviyelerini etkilediği; MAPT gen ekspresyonuna karşı inhibisyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu durum terapötik bir hedef olarak öne sürülmüştür (Coupland vd 2016).

2.8. Hipotez ve Bilimsel Katkı

H1: Parkinson hastalarının periferik kan örneklerinde lncRNA'ların ekspresyonlarının değişimi olasıdır.

H2: Parkinson hastalarının periferik kan örneklerinde belirlenen lncRNA'lar ve onların mRNA'ları biyobelirteç olabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı tarafından "Parkinson Hastalığı (PH)" tanısı alan bireyler (n=10), tek taraflı başlangıç öyküsü bulunmasına ve ilk yıllarda dopaminerjik tedaviye yanıtlarının iyi olmasına dikkat edilerek çalışmamıza dahil edilmiştir. Hasta grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri Tablo 2' de gösterildi. Kontrol grubu ise; Pamukkale Üniversitesi Hastanesine başvuran 50 yaş üzeri, başka nedenlere bağlı ikincil parkinsonizm olguları ile diğer dejeneratif hastalıklarla ilintili parkinsonizm vakaları dışlanarak belirlenen bireylerden (n=10) oluşmuştur. Hastalar ve kontrol grubuna ait bilgiler yüz yüze görüşme ile toplandı. Kontrol grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri ise Tablo 3' de gösterildi.

Araştırmaya, Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 25.08.2020 tarihinde 60116787-020\50302 karar numarasıyla onay verildi.

Tablo 2. Hasta Grubu İçin Çalışmaya Dahil Olma ve Dışlama Kriterleri

Dahil olma kriterleri	Dışlama kriterleri
1. Parkinson hastalığı belirtilerinin, hastalarda 50 yaşından sonra olması	1. Progresif Parkinson belirtileri yanında tekrarlayan inme ataklarının olması
2. Geçirilmiş kafa travması öyküsünün olmaması	2. Geçirilmiş kafa travması öyküsü
3. Ensefalit öyküsünün olmaması	3. Ensefalit öyküsünün varlığı
4. Progresif Parkinson belirtileri yanında tekrarlayan inme ataklarının olmaması	4. Babinski refleksinin varlığı
5. Semptomlar başladığında nöroleptik tedavi almamış olması	5. Semptomlar başladığında nöroleptik tedavi almış olması
6. L-DOPA tedavisine yanıt alınıyor olması	6. L-DOPA tedavisine yanıtızsızlık
7. MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) v.b. toksik madde maruziyetinin olmaması	7. MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) v.b. toksik madde maruziyetinin olması

Tablo 3. Kontrol Grubu İçin Çalışmaya Dahil Olma ve Dışlama Kriterleri

Dahil olma kriterleri	Dışlama kriterleri
1. Parkinsonizm bulgularının olmaması	1. Parkinsonizm bulgularının varlığı
2. Parkinson hastalığı dışında tanı almış nörolojik bir hastalığının olmaması	2. Parkinson hastalığı dışında tanı almış nörolojik bir hastalık varlığı
3. Ailede (1. derece akrabalarda) Parkinson hastalığı öyküsü olmaması	3. Ailede (1. derece akrabalarda) Parkinson hastalığı öyküsü varlığı

3.1. Gereçler

3.1.1. Cihazlar

Araştırmamızda kullanılan cihazlar Tablo 4'te verildi.

Tablo 4. Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Rotina 35R
Vorteks	Elektromag M16-500
Isı Bloğu	Boeco Thermo Shaker TS-100
Spektrofotometre	Nanodrop 2000c, ThermoScientific
PCR Cihazı	Sensoquest
Eş zamanlı PCR Cihazı	Bio-Rad CFX96

3.1.2. Kimyasallar

Araştırmamızda kullanılan kimyasallar Tablo 5'te verildi.

Tablo 5. Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal	Marka
Ficoll-paque	Cegrogen
Dengeli Tuz Solüsyonu	Capricorn PBS-1A
Kloroform	Carlo CE.412653
İsopropil Alkol	Sigma-Aldrich
Etanol (%70)	Merck
RNA içermeyen su	Thermo Scientific

3.1.3. Kitler

Araştırmamızda kullanılan kitler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan Kitler

Kit	Firma
cDNA Synthesis Kit with RNase Inh. (High Capacity)	Atlas Biyoteknoloji
2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX)	Atlas Biyoteknoloji

3.1.4. Kullanılan Primer Dizileri

Araştırmamızda kullanılan primer dizileri Tablo 7'de verildi.

Tablo 7. Kullanılan Primer Dizileri

LncRNA - mRNA	Dizi (5'-3')
LIN7C	F: GTTGTTGAGCTACCAAAAACAG R: CACTCCATTAACAGAGAGGA
PKIA-AS1	F: TCAGCAAGGGCAAATCCCAA R: GCAATGCCAAAGGACGTTGT
LEF1-AS1	F: CCCTTTGTGTGGCCTGGACT R: TCCTGATGCTCTAGGTTGGTT
SMAD2	F: GGGTTTTGAAGCCGTCTATCAGC R: CCAACCACTGTAGAGGTCCATTC
LHX3	F: CTTACAACACCTCGCCCAAGCC R: TCTTCAGCCTCTTCTCCTTGGC
SRSF10	F: GGAGGAGATCAAGAAGTCGGTC R: TGTCGGAATGGCTTCTGCTACG
EOMES	F: AAATGGGTGACCTGTGGCAAAGC R: CTCCTGTCTCATCCAGTGGGAA

3.2. Yöntemler

3.2.1. Density-Gradient Santrifüj Yöntemi ile Periferik Kan-Mononükleer Hücre (PBMC) İzolasyonu

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında, Tablo 1'deki dahil olma kriterlerini taşıyan olgulara çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiklerine dair "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (hasta grubu)" imzalatılıp 10 ml periferik kan örneği K2EDTA antikoagülant tüpler kullanılarak alındı.

Kontrol grubu için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalında, Tablo 2'deki kriterleri karşılayan 10 bireye çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiklerine dair "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (kontrol grubu)" imzalatılıp 10 ml periferik kan örneği K2EDTA antikoagülant tüpler kullanılarak alındı.

Yoğunluk-kademeli santrifügasyon ile mononükleer hücre izolasyonu için uygulanan basamaklar aşağıdaki gibidir;

- Bir santrifüj tüpüne 3 ml ficoll-paque eklendi ve üzerine dengeli tuz solüsyonu ile seyreltilmiş 4 ml kan örneği dikkatli bir şekilde ilave edildi (2ml kan örneği 2 ml dengeli tuz solüsyonu ile dilue edildi).
- Örnek 400x g 'de 18-24 °C de 30-40 dakika santrifüj edildi. Supernatant ayrıldıktan sonra ara fazda kalan mononükleer hücreler steril pipet yardımıyla başka bir santrifüj tüpüne aktarıldı.
- Transfer edilen mononükleer hücrelerin hacminin yaklaşık 3 katı kadar (~6 ml) dengeli tuz solüsyonu eklendi. Nazikçe pipetaj yapılarak karıştırıldı.
- Örnek 400-500x g 'de 18-20 °C 'de 10-15 dakika santrifüj edildi. Supernatant uzaklaştırıldı ve tekrar 6-8 ml dengeli tuz solüsyonu ile hücreler yıkandı.
- Örnek tekrar 400-500 x g 'de 18-20 °C 'de 10 dakika santrifüj edildi ve supernatant uzaklaştırıldı.
- Elde edilen hücre pelleti üzerine 500 ul Trizol Reaktif eklenip kullanıma kadar -80 °C 'de saklandı.

3.2.2. PBMC'lerden Total RNA İzolasyonu

- Trizol reaktif içinde muhafaza edilen örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Üzerlerine 200 µl kloroform eklendi ve 15 saniye vorteks yapıldı.
- Örnekler 30 °C de 5 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 4°C 'de, 12.000 xg' de 15 dakika santrifüj edildi.

- Süpernatant kısmında toplanan RNA yeni bir tüpe aktarıldı. Üzerine 500 µl isopropanol eklendi ve pipetaj yapılarak 15-30 °C de 10 dk inkübe edildi.
- Örnekler 4°C 'de, 12.000 xg' de 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süpernatant atıldı ve pellet, 1 ml %75'lik etanol ile yıkandı.
- 4°C 'de, 7.500 xg' de 5 dakika santrifüj edildikten sonra supernatant atıldı.
- Etanolün uzaklaştırılması amacıyla tüplerin kapakları açık bırakılarak RNA pelleti kurumaya bırakıldı.
- Pellet, miktarı ile orantılı şekilde RNaz içermeyen su içerisinde çözüldü.
- 60°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Elde edilen RNA kullanıma kadar -20°C'ye kaldırıldı.

3.2.3. RNA Miktar ve Saflık Tayini

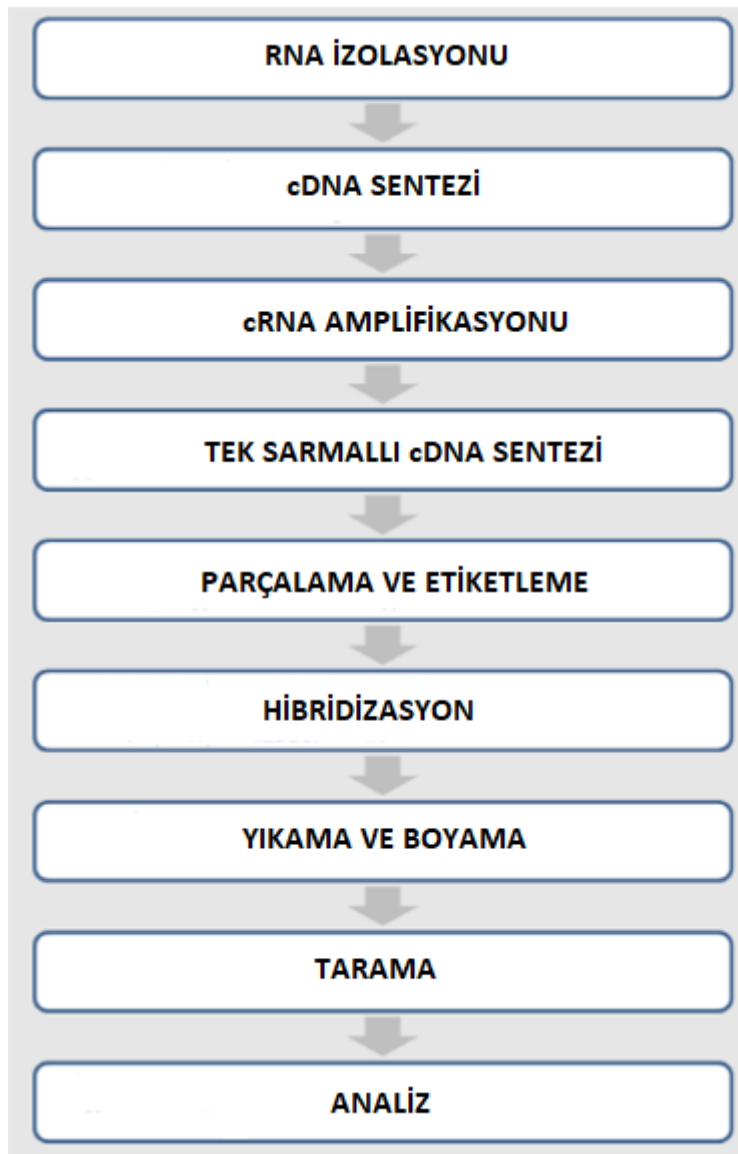
Total RNA izolasyonu sonrası elde edilen RNA'ların konsantrasyonları ve saflık değerleri her bir RNA örneğinden 2 µl alınarak spektrofotometrik yöntemle (Nanodrop 2000c, ThermoScientific) belirlendi. Örneklerle ait konsantrasyon ve A260/280 değerleri not edilerek RNA kalitesi için saflık oranı 1.8 ile 2 arasında olan örnekler kaliteli kabul edildi.

3.2.4. Mikrodizin Analizi

Mikrodizin analizi için RNA saflık tayininde kaliteli kabul edilen hasta (n=3) ve kontrol grubu (n=2) örneklerinden 5 tanesi seçilerek MacroGen firması tarafından hizmet alımı yapıldı. Analizde firma tarafından geliştirilen GeneChip™ Human Gene 2.0 ST Array platformu kullanıldı. Mikrodizin deney yöntemi aşağıdaki gibidir (Şekil 8).

- cDNA, üretici tarafından tarif edildiği gibi GeneChip WT (Whole Transcript) Amplifikasyon kiti kullanılarak sentezlendi.
- Sens cDNA daha sonra parçalandı ve GeneChip WT Terminal etiketleme kiti kullanılarak TdT (terminal deoksinükleotidil transferaz) ile biyotin etiketlendi.
- Yaklaşık 5.5 µg etiketli DNA hedefi, 16 saat boyunca 45°C'de Affymetrix GeneChip Dizisine hibridize edildi.
- Hibritleştirilmiş diziler, bir GeneChip Fluidics Station 450 üzerinde yıkandı ve boyandı ve bir GCS3000 Tarayıcısında (Affymetrix) tarandı.
- Prob hücre yoğunluğu veri hesaplaması ve CEL dosyası oluşturma, Affymetrix GeneChip Command Console Yazılımı (AGCC) kullanılarak gerçekleştirildi.
- Analiz yazılımı gerçekleştirildi (Affymetrix Power Tools, R 3.3.3).

- Ham veri hazırlama ve İstatistik analiz için veriler özetlendi ve Affymetrix Power Tools (APT)'de uygulanan sağlam Robust Multi-Average (RMA) yöntemi ile normalleştirildi. Sonuç gen seviyesi RMA analizi ile dışa aktarıldı.
- İfadenin istatistiksel önemini belirlemek için veri kat değişimi hesaplandı. Bir DEG seti için, bir benzerlik ölçüsü olarak tam bağlantı ve Öklid mesafesi kullanılarak Hiyerarşik küme analizi yapıldı.
- Önemli prob listesi için Gen Zenginleştirme ve Fonksiyonel Açıklama analizi, Gene Ontology ([//geneontology.org](http://geneontology.org)) kullanılarak yapıldı. Tüm veri analizi R 3.3.2 (www.r-project.org) kullanılarak yapıldı.



Şekil 8. Mikrodizin Deney Yöntemi

3.2.5. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için A.B.T. cDNA sentez kiti kullanıldı. Reaksiyon karışım içeriği Tablo 8'de gösterildi. Kit bileşenleri aşağıda önerilen oranlarda bir tüp içerisinde karıştırıldı. Reaksiyon karışımı PCR cihazında sırasıyla 25°C'de 10 dakika, 37°C'de 120 dakika ve 85°C'de 5 dakika olacak şekilde reaksiyona tabi tutuldu. Örnekler eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılabilecek kadar -20°C'de saklandı.

Tablo 8. cDNA Çevrimi Reaksiyon Koşulları

Bileşen	Miktar
Total RNA	10 µl
dNTP Karışımı	1 µl
Random Primer	2 µl
RNaz İçermeyen Su	3.5 µl
10X Tampon	2 µl
Reverse Transkriptaz	1 µl
RNaz İnhibitörü	0.5 µl
Total Hacim	20µl

3.2.6. LncRNA'ların Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Analizi

Mikrodizin analizi sonucunda belirlenen lncRNA'ların primerleri tasarlandı. Tüm hasta ve kontrol gruplarından elde edilen cDNA örnekleri SYBR-Green 2X Master Mix (without ROX) (A.B.T.) kullanılarak eş zamanlı PCR cihazında (Bio-Rad CFX96) çoğaltıldı. Reaksiyon karışım içeriği Tablo 9'da verildi.

Reaksiyon döngüsü her örnek için 3 tekrarlı olacak şekilde; 95°C'de 5 dakika ilk denatürasyon, 40 döngü; 95°C'de 15 saniye denatürasyon ve 60°C'de 60 saniye primer bağlanması ve uzaması adımlarını içermektedir.

Tablo 9. Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları

Bileşen	Miktar
cDNA örneği	2 µl
SYBR- Green MasterMix (without ROX)	10 µl
İleri Primer (Forward)	3 µl
Geri Primer (Reverse)	3 µl
RNaz İçermeyen Distile Su	2 µl
Total hacim	20 µl

3.2.7. LncRNA Hedeflerinin Gen Ontoloji (GO) Analizleri

Mikrodizin analizi sonucunda belirlenen lncRNA'ların moleküler seviyedeki temel aktivitelerini, hangi biyolojik süreçte ve biyokimyasal yolda yer aldığını belirlemek için Gen Ontoloji (GO) analizi gerçekleştirildi.

3.2.8. İstatistiksel Analiz

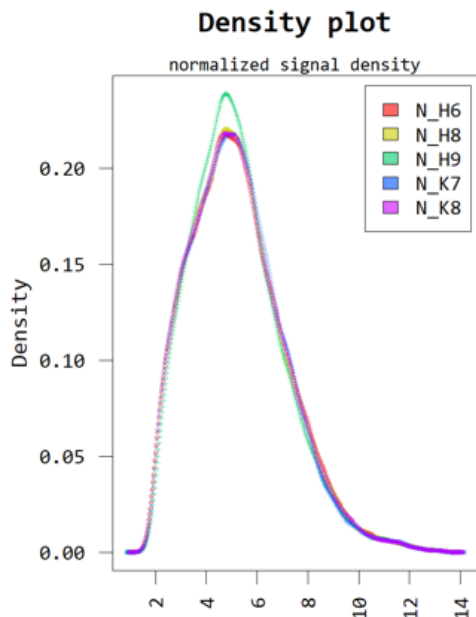
Veriler SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software (Armonk, NY: IBM Corp.)) paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, ortanca (IQR: 25. ve 75. yüzdeler), en küçük- en büyük değerler ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Hasta ve kontrol gruplarına ait lncRNA ve mRNA qRT-PCR verilerinin ct değerleri " ΔCt " analizi ile karşılaştırıldı. Bağımsız grup incelemelerinde; Parametrik test varsayımları sağlandığında Bağımsız gruplarda t testi; Parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki kare testi kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

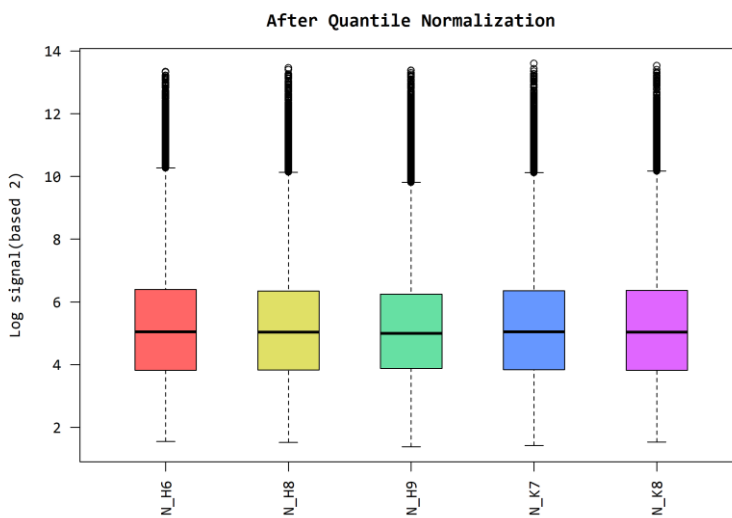
4.1. Mikrodizin Analizi Verilerinin Kalite Kontrolü

Analizde firma tarafından geliştirilen GeneChip™ Human Gene 2.0 ST Array platformu kullanıldı. Platformda 53.617 adet spesifik prob bulunmaktadır.

Normalize edilen problemlerin dağılımının karşılaştırılması için density plot analizi gerçekleştirilmiş (Şekil 9), normalleştirilmiş sinyalin yüzdesine dayalı olarak örnek ifadesinin dağılımı da box plot grafiğinde gösterildi (Şekil 10).

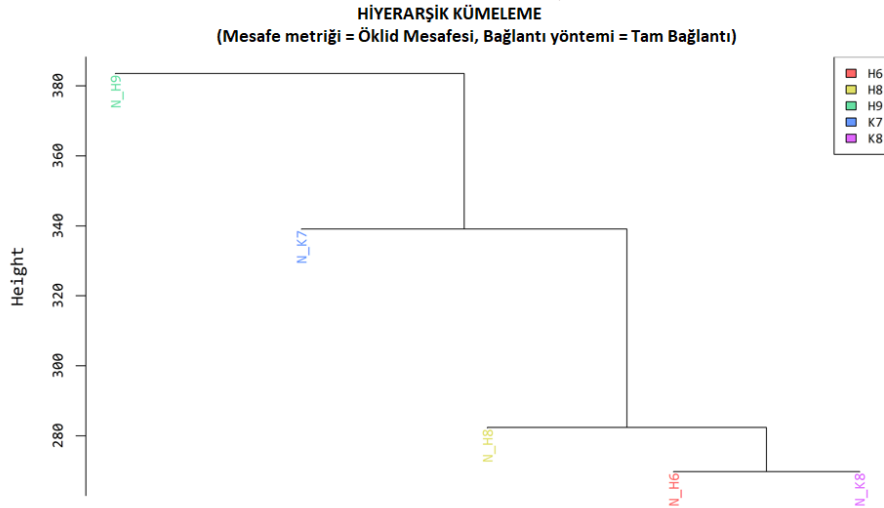


Şekil 9. Örneklerin Density Plot Analizi

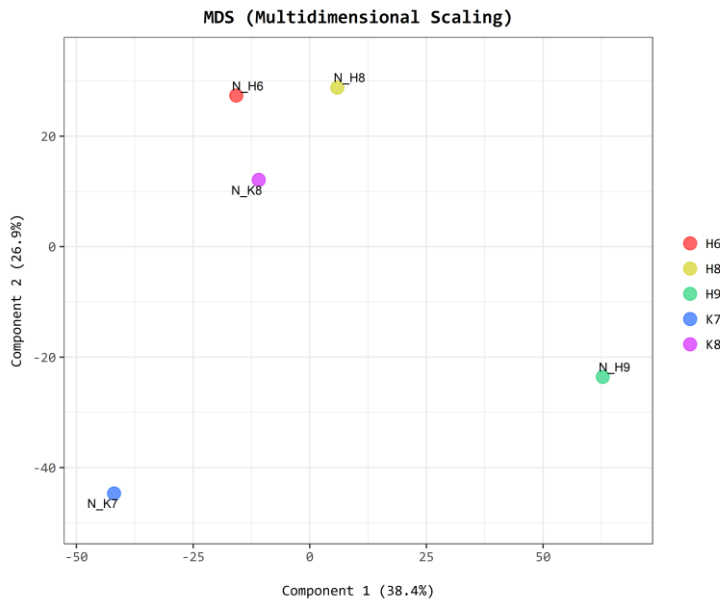


Şekil 10. Normalleştirilmiş Sinyalin Yüzdesine Dayalı Olarak Örnek İfadesinin Dağılımını Gösteren Box Plot Grafiği

Her bir örneğe ait yüksek ekspresyon benzerlikleri gruplanmaktadır. Gruplamalara ait örnek hiyerarşik kümeleme grafiği (Şekil 11) ve her örneğin normalleştirilmiş değerinden işlenen; örnekler arasındaki benzerliği ve toplam verilerin değişkenliğini gösteren 2 boyutlu MDS (Çok Boyutlu Ölçekleme) grafiği (Şekil 12), herhangi bir aykırı örnek veya örnek grupları arasında benzer ifade kalıplarının tanımlanmasına izin vermektedir.



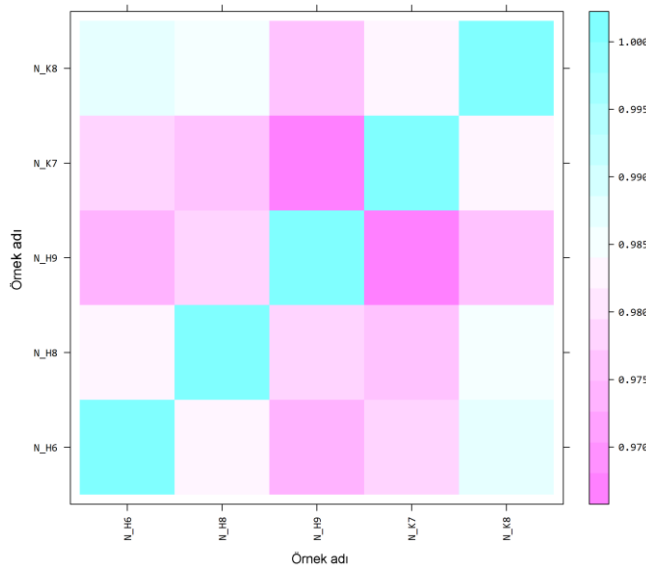
Şekil 11. Benzer Özellik Gösteren Verilerin Hiyerarşik Kümeleme Grafiği



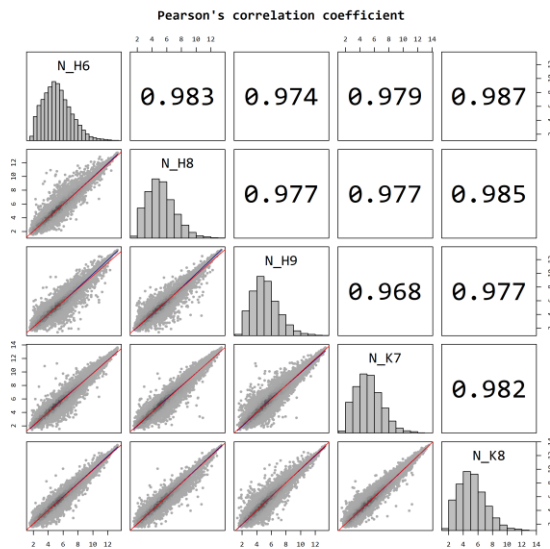
Şekil 12. 5 Örnek Arasındaki Benzerliği ve Toplam Verilerin Değişkenliğini gösteren MDS grafiği

Örnekler arasındaki tekrarlanabilirliğin derecesini görmek için ise level plot (Şekil 13) ve scatter plot analizleri gerçekleştirildi (Şekil 14).

Scatter plot (dağılım grafiği), iki farklı değişken arasındaki ilişkinin gücünü, yönünü ve biçimini göstermektedir. Numuneler arasındaki benzerlik, numunenin normalleştirilmiş değerinin Pearson korelasyon katsayısı ile elde edilmektedir: $-1 \leq r \leq 1$ aralığı için, değer 1'e ne kadar yakınsa, örnekler o kadar benzerdir. Aralarında ilişki bulunan iki değişkenin değerleri diyagramda bir çizgi boyunca uzanmakta ve karşılık gelen değerler bu çizgiye yaklaştıkça aralarındaki ilişkinin güçlendiği anlaşılmaktadır.

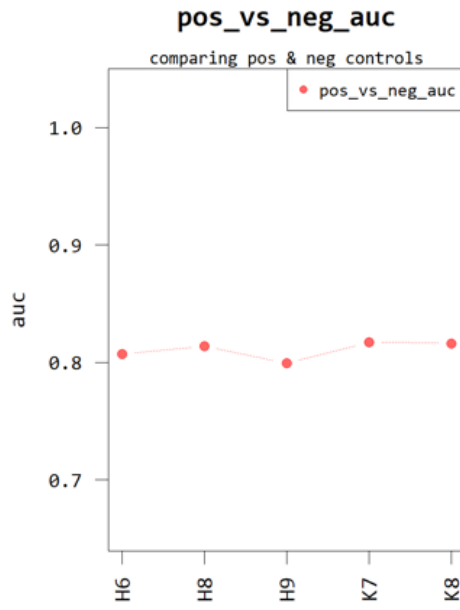


Şekil 13. Level Plot Analizi ile 5 Örneğe Ait Korelasyon Matrisi



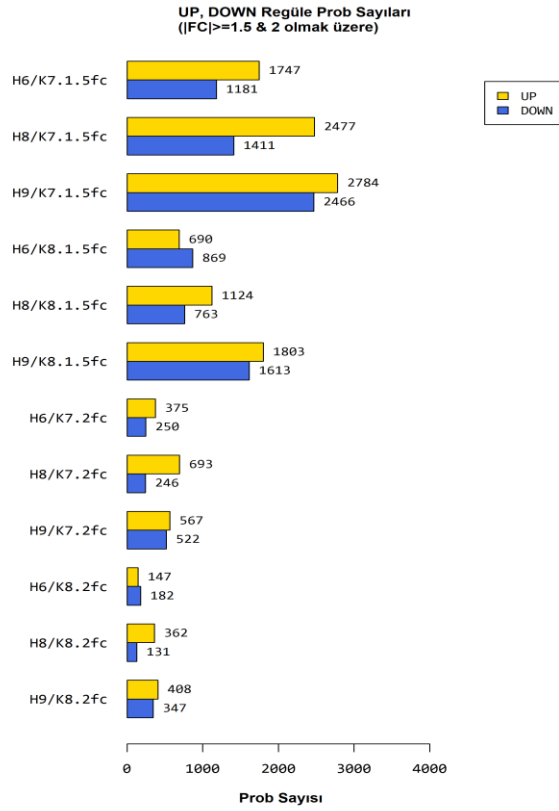
Şekil 14. Veri Kalite Kontrolünün Scatter Plot Analizi ile Gösterilmesi

Deneilerin sonunda kontrol ölçümleri ve diğer ölçümler arasında bir karşılaştırma yoluyla sonuçların güvenilirliğini artırarak test geçerliliğini değerlendirmek için pozitif ve negatif kontroller kullanılmaktadır. Kontrol ve hasta örneklerinin prob dağılımlarında pozitif ve negatif kontrollerin karşılaştırılması Şekil 15'te verildi.



Şekil 15. Kontrol ve Hasta Örneklerinin Prob Dağılımlarında Pozitif ve Negatif Kontrollerin Karşılaştırılması

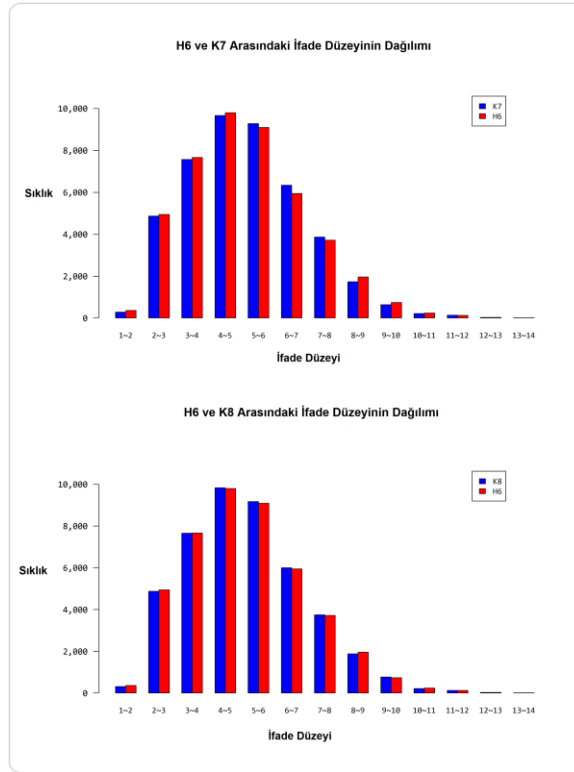
Mikrodizin analizine göre kontrol grubu ile kıyaslandığında 1,5 kat ve 2 kat değişim gösteren prob sayıları Şekil 16'da gösterildi.



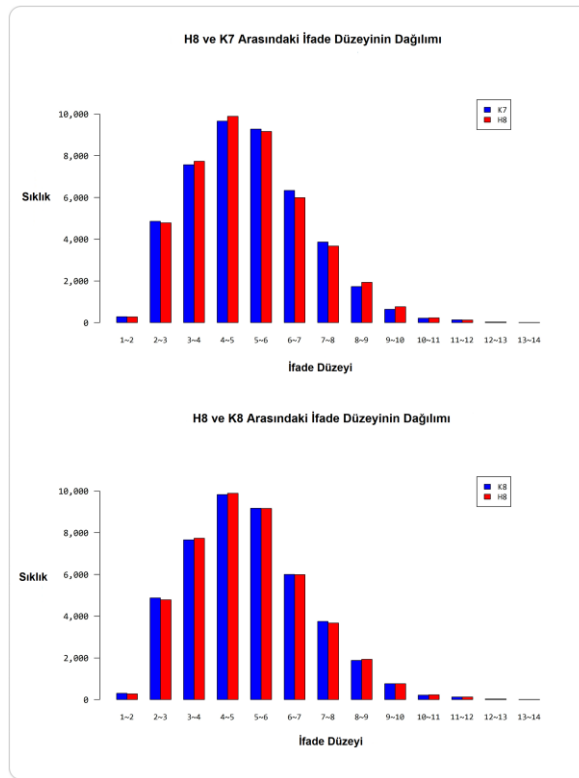
Şekil 16. Hasta ve Kontrol Grubu Örneklerinde 1,5 ve 2 Kat Ekspresyon Değişimi Saptanan Prob Sayıları

Her bir hasta örneklerinin kontrol 7 ve kontrol 8 örnekleri ile karşılaştırılması ile katsayı değişimi (fold-change) dağılım grafiği Şekil 17'de verildi.

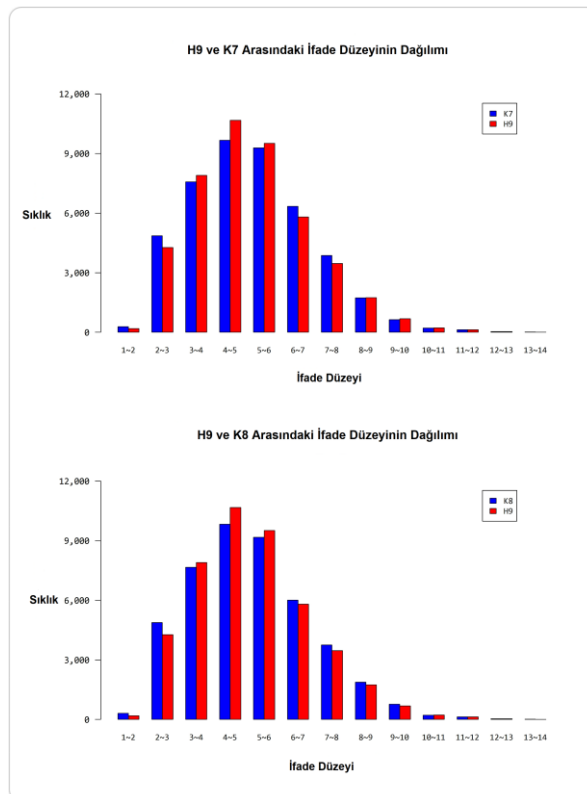
a)



b)

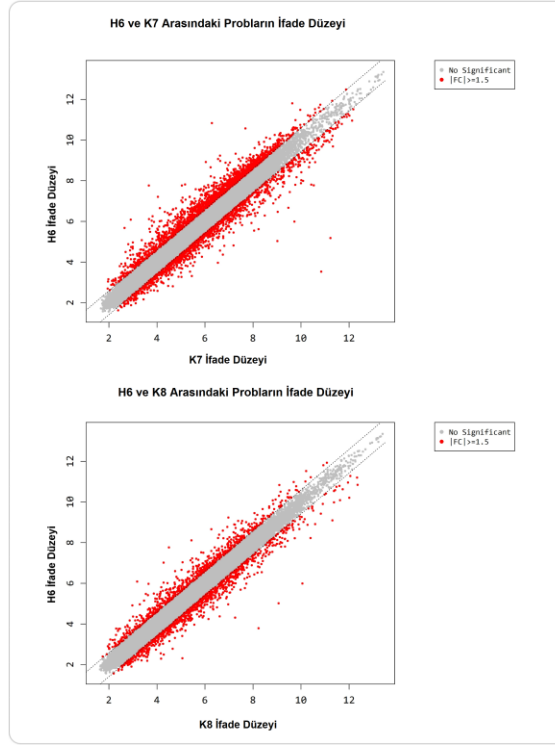


c)

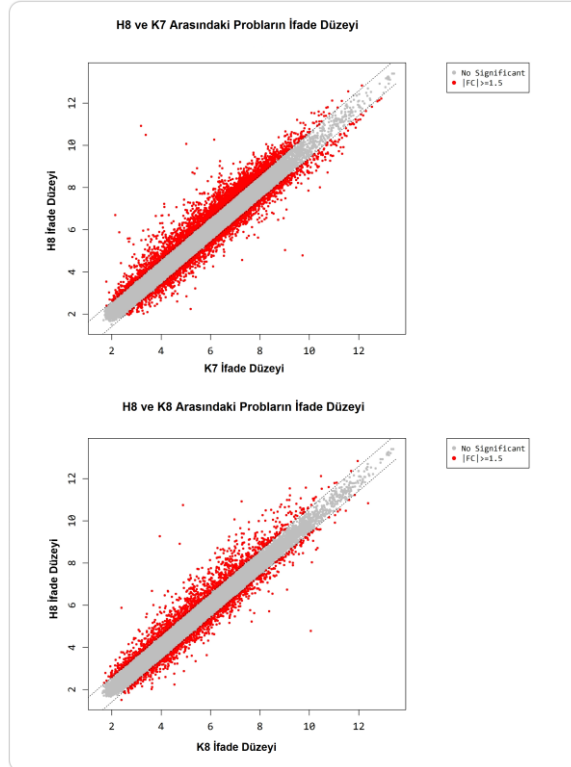


Şekil 17. Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Katsayı Değişimi (fold-change) Dağılımı. **a)** H6 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi. **b)** H8 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi. **c)** H9 ve K7/K8 Grupları Arasında Katsayı Değişimi.

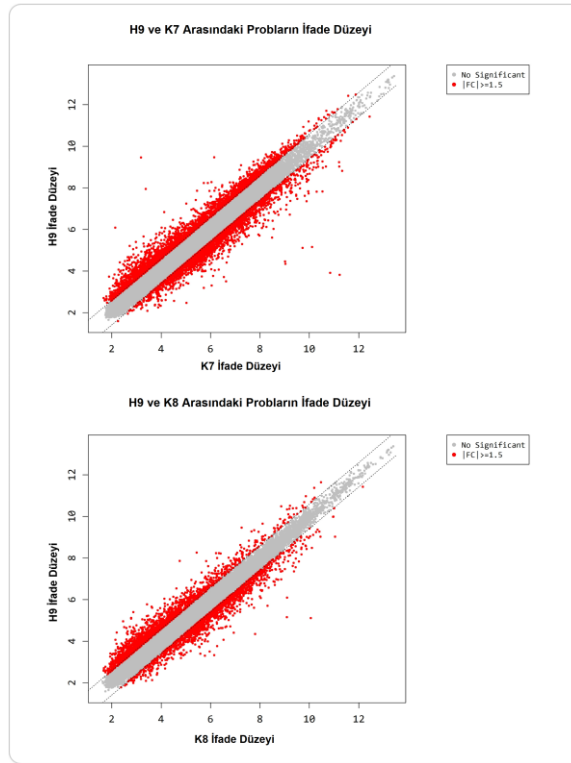
a)



b)

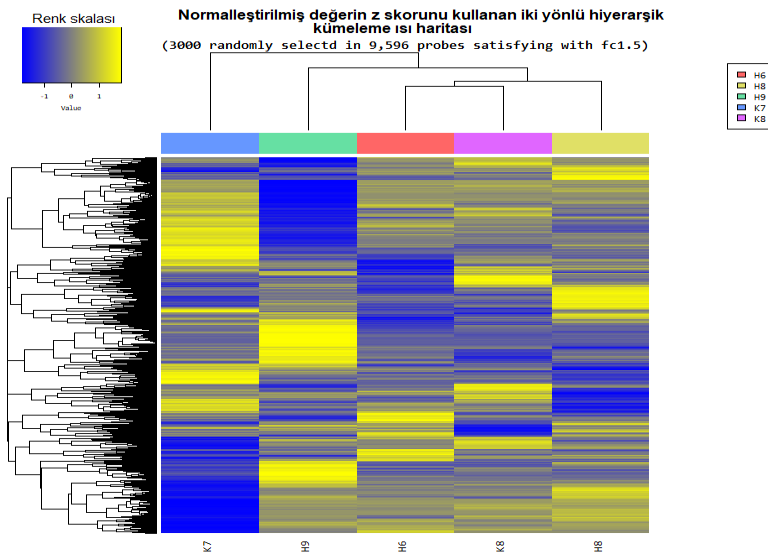


c)



Şekil 18. Hasta ve Kontrol Grupları Arasındaki Problemlerin Ekspresyon Seviyelerinin Dağılım Grafiği Olarak Gösterilmesi. **a)** H6 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği. **b)** H8 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği. **c)** H9 ve K7/K8 Grupları Arasındaki Problemlerin Dağılım Grafiği.

Hasta ve kontrol grupları arasındaki problemlerin ekspresyon seviyelerinin dağılım grafiği Şekil 18'de gösterildi.



Şekil 19. Farklı Olarak Eksprese Edilen LncRNA'ların Hiyerarşik Kümeleme (heat map) Analizi ile Gösterilmesi

Yukarıdaki ısı haritası, normalleştirilmiş değerlere sahip en az bir karşılaştırma grubunda anlamlı olan prob setlerinin ve örneklerin benzerliğini kümeleyen hiyerarşik kümeleme analizinin sonuçlarını göstermektedir (Şekil 19). Satırlar modüle edilmiş genlerin ifadesini, sütunlar ise hasta ve kontrol örneklerini temsil etmektedir. Renk skalası lncRNA ekspresyonunu gösterir; sarı renk *Upregülasyonu* ve mavi renk ise *Downregülasyonu* ifade etmektedir.

4.2. Mikrodizin Analizi

Mikrodizin analizi sonucunda lncRNA'ların artan ve azalan ekspresyon değişimlerini belirlemek için alt sınır $\leq -1,5$ ve üst sınır $\geq 1,5$ kat olarak belirlenerek mikrodizin analizi gerçekleştirilen 3 hastanın her birinin en az bu alt ve üst sınır kat değerlerini karşılaması göz önünde bulunduruldu. Bu filtreleme kriterlerine uygun olarak Parkinson hastalarında 31 *downregüle* ve 13 *upregüle* lncRNA saptandı. Bu lncRNA'lardan bazıları ve kat değişimleri Tablo 10 ve 11'de gösterildi.

Tablo 10. Kontrollere Göre Hasta Gruplarında *Upregüle* Bulunan lncRNA'lar

<i>Upregüle</i> lncRNA'lar	Hasta 6	Hasta 8	Hasta 9
BACH1-IT2	1,755765	2,216188	1,532206
LOC105377225	3,620402	2,129862	1,570441
LOC105372751	1,693972	2,295550	1,524409
LIN7C	1,529203	1,939265	1,944110
OTUD6B-AS1	1,774337	1,821112	1,821112
PKIA-AS1	2,140103	1,835064	2,774658
LINC00211	1,992528	1,998490	1,603028
LOC102725160	1,595214	2,004733	1,595214
LOC100507639	1,958881	2,851537	2,307771
LOC101060038	1,943975	3,515378	2,198851

Tablo 11. Kontrollere Göre Hasta Gruplarında *Downregüle* Bulunan lncRNA'lar

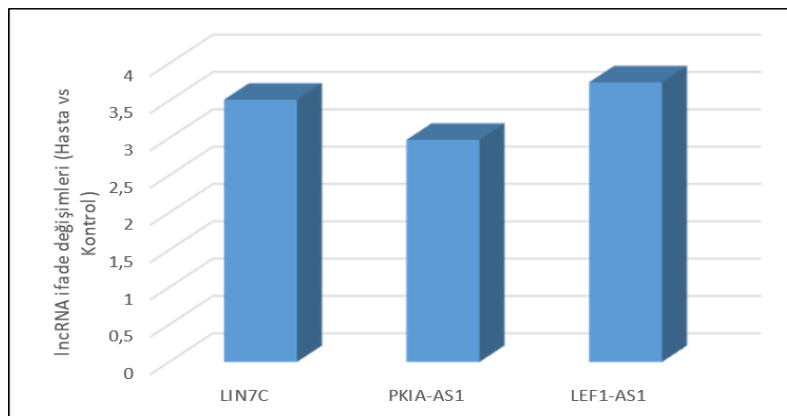
Downregüle LncRNA'lar	Hasta 6	Hasta 8	Hasta 9
LOC100287834	-1,646965	-1,783560	-1,618727
PARD3-AS1	-1,604918	-1,604918	-1,695570
LOC645485	-1,505362	-1,505362	-1,706109
LOC101927056	-1,676578	-1,723773	-2,053038
LEF1-AS1	-1,624054	-1,647353	-1,624054
LINC01355	-1,669400	-1,644136	-1,754014
NBR2	-1,702943	-1,504631	-1,743577
LOC400958	-1,652981	-1,952307	-2,021982
MORC2-AS1	-1,637313	-1,517441	-1,602395
LOC105370905	-1,520652	-2,257804	-2,023244

4.3. Ekspresyon Değişimi Saptanan lncRNA'ların qRT-PCR Yöntemi ile Doğrulanması

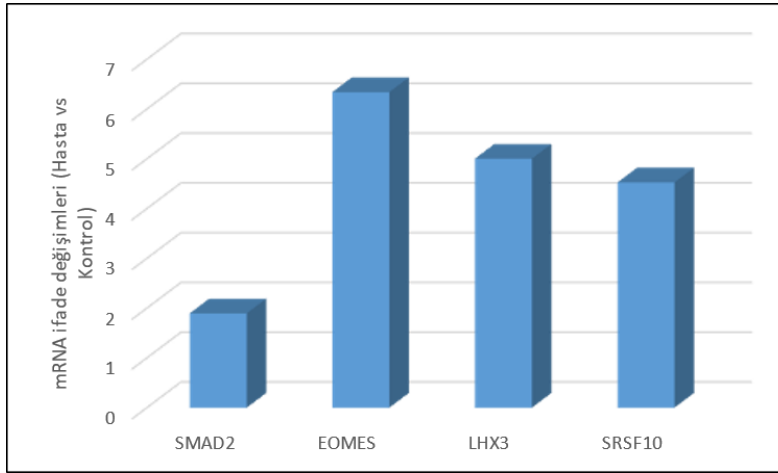
Mikrodizin analizi sonucunda LIN7C, PKIA-AS1 ve LEF1-AS1 lncRNA'larına ve de EOMES, LHX3, SRSF10 ve SMAD2 mRNA'larına özgün primerler tasarlanarak (Tablo 7) qRT-PCR yöntemi ile ekspresyon değişimlerinin validasyonu gerçekleştirildi.

Mikrodizin analizi sonucu azalmış ekspresyon gösteren EOMES, LHX3 mRNA'ları ile LEF1-AS1 lncRNA'nın qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı bulundu. Diğer yandan LIN7C ve PKIA-AS1 lncRNA'ları ile SRSF10 ve SMAD2 mRNA'larının mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdikleri bulundu.

Ekspresyon değişimlerine ait grafikler Şekil 20 ve Şekil 21'de gösterildi.



Şekil 20. qRT-PCR ile Belirlenen lncRNA İfade Değişimleri



Şekil 21. qRT-PCR ile Belirlenen mRNA İfade Değişimleri

4.4. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Tablo 12. Demografik Veriler

	Kontrol Grubu (n=10)		Hasta Grubu (n=10)		p
	AO(SS)	M(Q1-Q3)	AO(SS)	M(Q1-Q3)	
Yaş	57,3 ± 5,14	57 (51,75- 61,75)	64,3 ± 8,92	62,5 (57- 73)	p=0,049* (t=2,15)
	n(%)		n(%)		
Cinsiyet	Kadın	4(40.0)	3(30.0)		p=1
	Erkek	6(60.0)	7(70.0)		

AO; Aritmetik Ortalama

SS; Stansart Sapma

M; Medyan

*p<0,05

Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik veriler (yaş, cinsiyet) tablo 12'de gösterildi. Hasta ve kontrol gruplarına ait lncRNA ve mRNA qRT-PCR verilerinin ct değerlerinin karşılaştırılmasında; "ΔCt" analizi, Independent Samples t Testi, Mann Whitney U testi ve Ki-kare testleri kullanılarak istatistiksel analizleri gerçekleştirilmiş

olup, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 13). (LHX3= $p<0,01$ EOMES= $p<0,031$ ve LIN7C= $p<0,029$) $p<0,05$ değeri anlamlılık seviyesi olarak kabul edildi.

Tablo 13. LncRNA ve mRNA qRT-PCR Verilerinin İstatistiksel Analizi

	Kontrol			Hasta			p
	A.O ± S.S	Med (Q1-Q3)	Min-Maks	A.O ± S.S	Med (Q1-Q3)	Min-Maks	
LIN7C	0,88 ±1,66	0,77 (-0,35-2,25)	-1,59 - 3,57	-0,97 ± 1,82	-1,15 (-2,13-0,47)	-4,22 - 2,15	0,029* (t=2,374)
PKIA-AS1	3,05 ±2,27	2,94 (1,01-5,02)	-0,42 - 6,15	1,48 ± 1,96	1,56 (0,39- 2,5)	-2,09 - 4,59	0,114 (t=1,659)
LEF1-AS1	4,23 ±1,8	3,35 (2,79-6,23)	2,45 - 7,06	2,6 ± 2	2,81 (1,14- 4,51)	-1,08 - 4,65	0,091 (t=1,797)
SMAD2	0,27 ±1,83	-0,71 (-0,93-1,59)	-1,26 - 3,73	-1,74 ± 3,69	-2,46 (-4,81-1,77)	-6,61 - 4,09	0,095 (z=-1,715)
EOMES	2,69 ±1,41	2,84 (1,43-3,88)	0,37 - 4,47	0,66 ± 1,95	0,39 (-1,06- 2,84)	-1,38 - 3,59	0,031* (t=2,391)
LHX3	29,78 ±0,41	29,88 (29,5-30,07)	28,99 - 30,27	28,75 ± 1,13	29,34 (27,53-29,65)	27,03 - 29,8	0,01* (z=-2,521)
SRSF10	-0,45 ±2,63	0,88 (-3,28-1,71)	-4,36 - 1,87	-2 ± 1,78	-2,26 (-3,57 - -0,07)	-4,29 - 0,57	0,234 (z=-1,26)

z: Mann-Whitney U

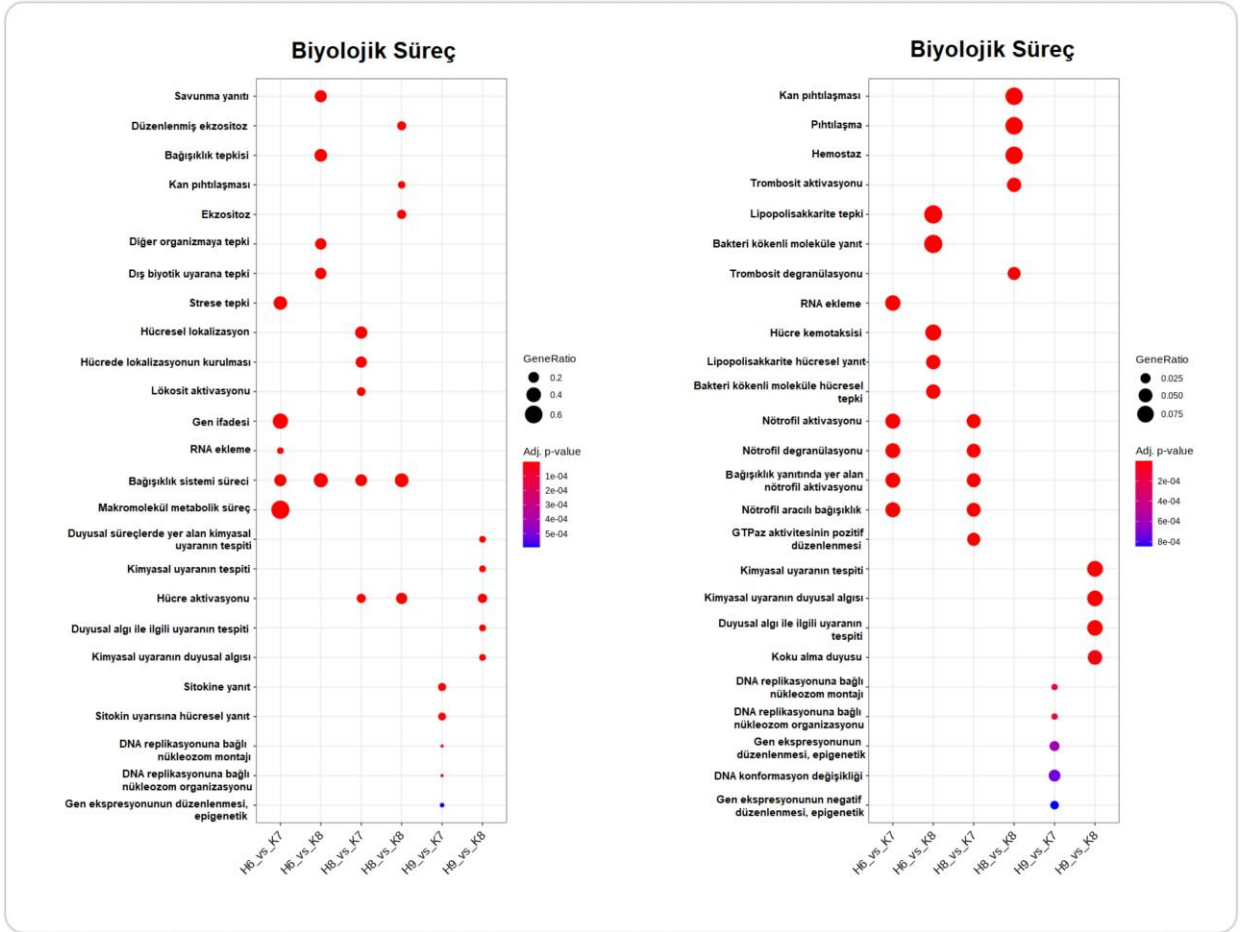
t: Independent Samples t

* $p<0,05$

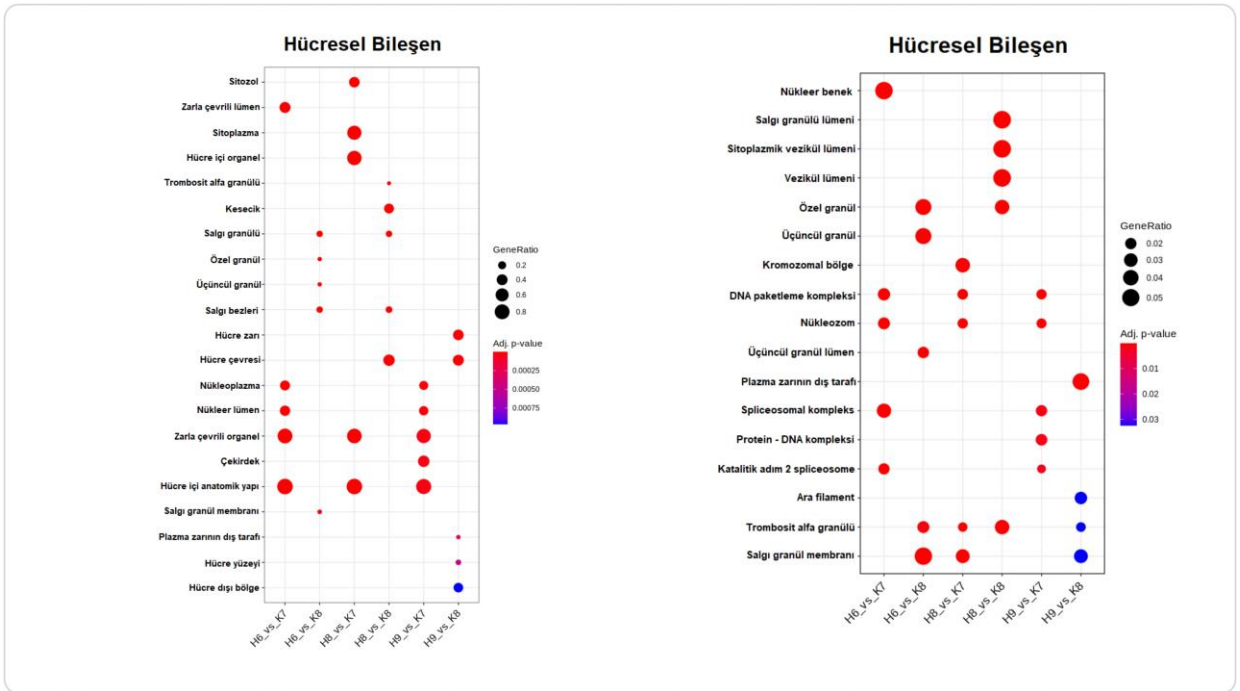
4.5. Gen Ontoloji Analizleri

Farklı eksprese edilmiş lncRNA'ların rol aldığı hücrenel, biyolojik ve moleküler açıdan fonksiyonel süreçlerini ortaya çıkarmak amacıyla Gen Ontoloji analizi yapıldı. Gen Ontoloji analizi için <http://geneontology.org/> veri tabanı kullanıldı. Her kategorideki hasta ve kontrol grupları karşılaştırılarak en anlamlı farklılık gösteren 20 süreç belirlendi (Şekil 22). $P<0.05$ değeri dikkate alınarak belirlenen analizde biyolojik süreç açısından bakıldığında makromolekül metabolik süreçler, bağışıklık sistemi, gen ifadesi, hücre aktivasyonu, nötrofil aktivasyonu; hücrenel bileşen süreci açısından bakıldığında zarla çevrili organel, hücre içi anatomik yapı, DNA paketlenme kompleksi, nükleozom, trombosit alfa granülü; moleküler fonksiyon süreci açısından ise ATPaz aktivitesi, sinyal alıcı aktivite, bağışıklık reseptör aktivitesi, protein bağlama gibi süreçler anlamlı bulundu.

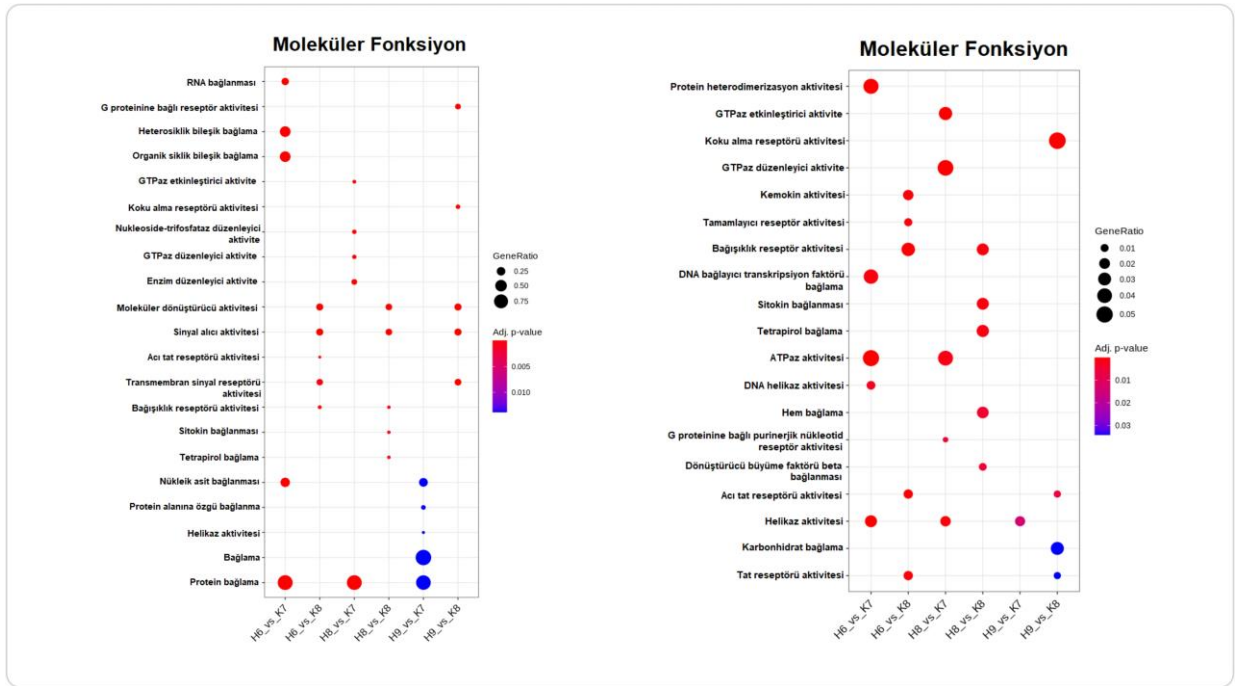
a)



b)



c)



Şekil 22. (a,b,c). Gen Ontoloji Analizi Sonucu En Çok Anlamlılık Gösteren 20 Süreç ($p < 0.05$)

5. TARTIŞMA

Periferik kan hücreleri, doku ve organlarla etkileşimleri nedeniyle çoğu nörodejeneratif hastalıklarda ilişkili olan bazı değişiklikleri yansıtmaktadır (Soreq vd 2014). Bu çalışmada, Parkinson hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde 13 *upregüle* ve 31 *downregüle* lncRNA belirledik. Diğer çalışmalarda, Parkinson hastalarının beyin dokusunda (Kraus vd 2017, Ni vd 2017) ve periferik kanında (Boros vd 2020) ayrıca PH'nin fare modelinde (Jiao vd 2017) ve hücre modellerinde de (Lin vd 2018) lncRNA'lar gösterilmiştir.

Bu çalışmada mikrodizin analiziyle ekspresyon değişimleri belirlenen LIN7C, LEF1-AS1 ve PKIA-AS1 lncRNA'ları ile SRSF10, SMAD2, EOMES ve LHX3 mRNA'larına özgün primerler tasarlanarak qRT-PCR yöntemi validasyonu gerçekleştirildi. Azalmış ekspresyon gösteren LEF1-AS1 lncRNA ile EOMES ve LHX3 mRNA'larının qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı saptandı. Diğer yandan LIN7C ve PKIA-AS1 lncRNA'ları ile SRSF10 ve SMAD2 mRNA'larının mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyonu gözlemlendi. qRT-PCR sonucunda LIN7C lncRNA ile

LHX3 ve EOMES mRNA'ları istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Mikrodizin analizi sonucu azalmış ekspresyon gösteren LEF1-AS1'in qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı bulundu. Diğer bir çalışmada LEF1_AS1'in belirgin şekilde artmış ifadeye sahip olduğu ayrıca *in vivo* ve *in vitro* deneylerle, LEF1-AS1'in inhibisyonunun LPS (lipopolisakkarit) aracılı mikrogial hücre apoptozunu ve inflamatuvar hasarı koruduğunu gösterilmiştir (Cui vd 2021). Bu çalışmada da belirlenen LEF1-AS1'in artmış ifadesi Cui vd (2021) çalışmasını destekler niteliktedir.

Ayrıca LIN7C ve PKIA-AS1 lncRNA'larının mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdiği saptandı. Literatür taramasında PH'de PKIA-AS1 ile ilgili bir bulguya rastlanmamakla birlikte Hu vd (2019) PKIA-AS1'in nöropatik ağrı ile ilişkili nöroinflamasyon üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarında PKIA-AS1'in önemli ölçüde *upregüle* olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca PKIA-AS1'in inhibisyonunun, omurilikte glial aktivasyonu ve inflamatuvar sitokinler IL-6, IL-1 β ve TNF- α 'nın salınımını azaltarak nöropatik ağrıyı hafiflettiğini de belirlemişlerdir. Nörodejenerasyonun nöroinflamasyon ile ilişkisi, inflamatuvar sürecin önemini göstermektedir. İnflamatuvar sürecin elemanı olan NF- κ B'nin organizmanın inflamasyonla alakalı cevaplarında, çok sayıda genin aktivasyonunda rol aldığı gösterilmiştir. Nöroinflamasyonun apoptoz aracılığıyla nöron kaybını tetikleyebileceği ve NF- κ B'nin bunda çeşitli mekanizmalarla pay sahibi olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca NF- κ B'nin hücre döngüsü, hücre proliferasyonu ve gelişiminde ayrıca sinaptik plastisite ve immün cevap verme süreçlerinde rol aldığı bilinmektedir (Amer ve Baltimore 1996, Shih vd 2015). Siklin bağımlı kinazlar (CDK'ler), hücre döngüsü, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve nöronal fonksiyonun kontrolü gibi çeşitli biyolojik süreçleri kontrol etmektedirler (Peng vd 2013). Hu vd (2019) PKIA-AS1'in CDK6 promotöründe DNMT1 katalizli metilasyonu azaltarak, NF- κ B hedef genlerini transkripsiyonel olarak aktive eden CDK6 ekspresyonunu düzenlediğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada PH lenfoblastlarının artan proliferasyonunun siklin D3/CDK6 kompleksinin aşırı aktivasyonu ile bağlantılı olduğu ve siklin D3/CDK6 ile ilişkili kinaz aktivitesini bloke etmeyi amaçlayan tedavilerin PH'nin artan hücre proliferasyonunu azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (Alqu zar vd 2015). Tartışılan bu literatürlere uygun olarak araştırmamızda kontrollere kıyasla Parkinson hastalarında *upregüle* olan PKIA-AS1'in nörodejenerasyonu ifade eden bir bulgu olarak hizmet edebileceği kanısındayız.

Chi vd (2019) PH ile ilişkili diferansiyel olarak eksprese edilmiş genleri ve lncRNA'ları belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında 22 sağlıklı kontrol kan örneği ve 50 PH kan örneğinden oluşan 72 örnek seçerek DEG'leri ve diferansiyel olarak ifade edilen lncRNA'ları (DElncRNA'lar) belirlemişlerdir. Analiz sonucunda 207 *upregüle*

edilmiş DEG (insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü (IGF1R) ve RPS4Y1) ve 187 *downregüle* DEG (DLG1 ve PURG) elde etmişlerdir. Ayrıca 2 *upregüle* edilmiş DEIncRNA (LINC00302 ve LINC00328) ve 5 *downregüle* DEIncRNA (FAM215A, MCF2L-AS1, NOP14-AS1, PART1 ve XIST) elde etmişlerdir. Ayrıca IGF1R'in PH'de önemli ölçüde *upregüle* edildiğini ve ITCH ile endositoz yolunda belirgin şekilde zenginleştiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada da Chi ve arkadaşlarının (2019) sonuçlarına benzer olarak FAM215A *downregüle* bulundu.

Zhou vd (2018), amaçları PH ile ilişkili genleri ve lncRNA'ları araştırmak olan çalışmalarında, PH ve normal kontroller arasında toplam 857 DEmRNA ve 77 DEIncRNA elde etmişlerdir. PH ve normal kontroller arasında diferansiyel olarak eksprese edilmiş ilk on lncRNA içerisinde yer alan LOC102724104'ün *upregülasyonu*; LOC105377225 ve LOC105373204'ün *downregülasyonu* bildirilmiştir. Bu çalışmada ise Parkinson hastalarında Zhou vd nin (2018) tersine LOC105377225'in *upregüle* olduğu bulundu.

Serin/arginin birleştirme faktörü 10 (SRSF10), SR proteinleri ailesinin bir üyesidir. SR açısından zengin birleştirme faktörleri, alternatif birleştirme düzenleyicileri olarak bilinen RNA bağlayıcı proteinlerdir. SR proteinleri, Splicing olayı için zayıf ek bölgelerinin tanınmasını artırarak alternatif eksonun dahil edilmesini sağlamaktadır. Eksona bağlı SR proteinleri güçlendirici olarak işlev görürken, introna bağlı SR proteinleri baskılayıcı olarak işlev görebilmektedir (Shen ve Mattox 2012). Bu nedenle, SR-RNA etkileşimlerinin konumu, spliceosome montajını ve ek yeri seçimini etkilemektedir (Jeong 2017). Torres-Odio vd (2017) çalışmalarında PINK1 eksikliği olan fare beyinde SRSF10 ifadesinde azalma göstermişlerdir. Araştırmamızda SRSF10 qRT-PCR sonucu mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdi.

Dönüştürücü büyüme faktörü-β'nin (TGF-β), SMAD transkripsiyon faktörleri ailesinin aktivasyonuna dayalı olarak; hücre büyümesi, farklılaşması, hücre göçü, istilası ve hücre dışı matris yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçleri düzenlediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda spesifik tümör alt kümelerinde Smad2 ve Smad4 genlerinde değişiklikler gözlenmiş ve bu nedenle Smad'ların bir tümör baskılayıcı işlevi olabileceği öngörülmüştür (Riggins vd 1996). Ayrıca Lagna vd (1996) Smad4'ün ligand yokluğunda homomerik bir kompleks olarak mevcut olduğunu ve sırasıyla BMP sinyal iletim yolu veya TGF-β/aktivine yanıt olarak SMAD1 veya SMAD2 ile heteromerik kompleksler oluşturduğunu göstermiştir. Bu nedenle, SMAD2, SMAD3 ve SMAD4 birlikte TGF-β'nin hücre içi sinyal iletim yolunun bir parçası olarak önemlidir (Massague 1998). Dönüştürücü büyüme faktörü-β (TGF-β), orta beyindeki embriyonik dopaminerjik (DA) nöronların gelişiminde ve

korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tesseur vd (2017) çalışmalarında nöronal TGF- β sinyallemedeki inhibisyonunun nigrostriatal dejenerasyona yol açtığını ve motor eksiklikleri desteklediğini; TGF- β sinyallemesinin aktivasyonunun ise farelerde MPTP'nin nörotoksitesini azalttığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada mRNA SMAD2'nin mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdiği bulundu.

LHX3 transkripsiyon faktörü, gen düzenleyici proteinlerin LIM-homeodomain (LIM-HD) ailesinin bir üyesidir (Mullen vd 2007). Memeli LIM-HD proteinlerinden ISL1, ISL2, LHX2, LHX3 ve LHX4, hipofiz gelişiminde rol oynamaktadır. Parkinson hastalığında, orta beyin dopaminerjik hücrelerinin kaybı, yürüme donması ve akinezi gibi ciddi lokomotor eksikliklere neden olmaktadır. Artan kanıtlar, bu eksikliklerin, hareketi kontrol eden bir beyin sapı bölgesi olan mezensefalik lokomotor bölgesindeki (MLR) azalmış aktiviteye bağlanabileceğini göstermektedir. Bretzner ve Brownstone (2013) yaptıkları çalışmalarında Farelerde Lhx3 ve Chx10 transkripsiyon faktörlerini ifade eden nöronları belirlemişler ve bu nöronların glutamaterjik yolların önemli bir bileşenini oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu veriler, Lhx3/Chx10 nöronların hareket için azalan bir motor komuta aracılık ettiklerini ortaya koymaktadır. Araştırmamızda LHX3 mikrodizin analizi sonucu *downregüle* bulundu. qRT-PCR sonucu *upregüle* bulunan LHX3, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu. Parkinson hastalarında motor fonksiyonlarında bozulmalar göz önüne alındığında mikrodizin analizi sonucu literatürü desteklemektedir.

Düzenleyici T hücreleri (Treg'ler), bağışıklık tepkisini bastırmak için hareket eden, böylece homeostazi koruyan T hücrelerinin özel bir alt popülasyonudur. Treg disfonksiyonunun, nöroinflamasyonu artırarak PH patogenezine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Kannarkat vd 2013, Saunders vd 2012). İnsan hastalıklarında Eomes ve nöroinflamasyon arasında sıkı bir ilişki bulunduğu ileri sürülmektedir. Raveney vd (2015) yaptıkları çalışmada, T-box transkripsiyon faktörü Eomes'i (Eomes + Th hücreleri) eksprese eden CD4 + T yardımcı hücrelerinin, akut deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modelinde kronik nöroinflamasyonun gelişiminde çok önemli bir rol oynadığını ortaya koymuşlardır. Araştırmalarında, Eomes geninin T hücresine özgü silinmesi, geç başlangıçlı EAE'yi önemli ölçüde iyileştirmiştir. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada Eomes + CD4 + İlerleyici multipl skleroz durumundaki hastalardan alınan periferik kanda ve beyin omurilik sıvısında T hücrelerinin artarak nöroinflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (Oki 2019). Bu çalışmada EOMES ifadesinin mikrodizin analizi sonucu *downregüle* olduğu belirlendi. Ayrıca qRT-PCR sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunarak EOMES ifadesininin *upregüle* olduğu belirlendi.

LIN7C, PATJ, MPDZ, PTPN14, anjiyomotin (AMOT) ve a-katenin gibi birçok hücre bağlantı proteini hippo sinyal yolağı bileşeni olarak tanımlanmıştır (Varelas vd 2010). Hippo sinyal yolu, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını ayrıca apoptozu düzenlemektedir (Li vd 2021). TAZ ve YAP (TAZ/YAP) transkripsiyonel düzenleyicilerinin lokalizasyonu ve yoğunluğu, hippo sinyal yolu tarafından düzenlenmektedir (Varelas vd 2010). Hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda nöronal ölüm, YAP'ın sınırlı aktivitesi aracılığıyla gerçekleşmektedir. Hippo sinyal yolunun aktivasyonu düşük YAP aktivitesine yol açmaktadır. Bu durum nörodejeneratif hastalıklarda önem taşımaktadır (Sahu ve Mondal 2020). Zhou vd (2020) PARK2'nin Özofagus skuamöz hücreli karsinom (ESCC)'daki işlevini değerlendirmek için yaptıkları çalışmalarında, PH ile ilgili gen olan PARK2'yi Hippo/YAP sinyali için önemli bir inhibitör olarak belirtmişlerdir. Ayrıca PARK2'nin, Hippo/YAP eksenini boyunca ESCC kanserinin ilerlemesini engellediğini göstermişlerdir. Bu araştırmada da LIN7C'nin mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdiği ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.

OTUD6B, hakkında az bilgi bulunan deubikuitinleştirici (DUB) enzimdir. Deubikuitinleştirici enzimler, hücre döngüsü regülasyonu, apoptoz ve DNA onarımı dahil olmak üzere birçok biyolojik süreçte çok önemli rollere sahip olmakla birlikte Wnt/ β -katenin ve NF κ B sinyali gibi spesifik moleküler yolları düzenlemektedirler. (Bhattacharya ve Ghosh 2014). OTUD6B-AS1'in işlevini araştıran ilk raporda OTUD6B-AS1'in, sens geninden bağımsız bir şekilde siklin D1 ekspresyonu yoluyla proliferasyonu ve apoptozu düzenlediği gösterilmiştir (Takata vd 2019). Li vd (2021) meme kanserinde yaptıkları çalışmalarında lncRNA OTUD6B-AS1'in MİR-26a-5p / MTDH yolunun aracılık ettiği otofajiyi ve genomik kararsızlığı düzenlediğini ve üçlü negatif meme kanserinde paklitaksel direncini artırdığını göstermişlerdir. Sistemik Sklerozlu (SSc) Hastaların Deri Dokusundaki düzensiz lncRNA'ların analizini rapor eden bir çalışmada 676 farklı şekilde eksprese edilmiş lncRNA tanımlanmıştır. Bu lncRNA'lardan CTBP1-AS2, OTUD6B-AS1 ve AGAP2-AS1'in ekspresyonu kontrole kıyasla hastalarda açıkça fark göstermiştir (Messemaker vd 2018). Yaptığımız literatür taramasında PH'de OTUD6B-AS1 ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmadı. Bu araştırmada mikrodizin analizinde OTUD6B-AS1 kontrole kıyasla hastalarda *upregüle* olduğu belirlendi.

Bu araştırmada yapmış olduğumuz gen ontoloji analizi sonucu, biyolojik süreçler; makromolekül metabolik süreçler, bağışıklık sistemi, gen ifadesi, hücre aktivasyonu, nötrofil aktivasyonu, hücresel bileşen süreçleri; zarla çevrili organel, hücre içi anatomik yapı, DNA paketleme kompleksi, nükleozom, trombosit alfa granülü, moleküler fonksiyon süreçleri; ATPaz aktivitesi, sinyal alıcı aktivite, bağışıklık

reseptör aktivitesi, protein bağlama gibi süreçler anlamlı bulundu.

Literatür taraması ile PH'de yapılmış diğer çalışmalara bakacak olursak, Wang vd (2020) periferik kan örnekleri olarak yaptıkları çalışmada, PH olan 55 Uygur hastasından ve 55 sağlıklı gönüllüden kan örnekleri olarak lncRNA'ların ekspresyon profilleri belirlemişlerdir ve farklı şekilde eksprese edilmiş upregüle 32 lncRNA ve downregüle edilmiş 18 lncRNA tanımlamışlardır. Bu farklı şekilde eksprese edilen lncRNA'ların, PH'nin gelişiminde rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. Parkinson hastalarının periferik kan hücrelerinde yapılan diğer bir çalışmada lncRNA'ların ekspresyon profilini incelenmiş ve NEAT1 lncRNA düzeylerinin kan hücrelerinde önemli ölçüde upregüle edildiği tespit edilmiş ve bunların hastalık mekanizmalarını anlamada potansiyel bir biyobelirteç olarak etkili olabileceği bildirilmiştir (Boros vd 2020).

Wang vd (2019) PH'li 32 hasta ve 13 sağlıklı kontrol üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında yeni nesil dizilemeyi kullanarak, 15 upregüle ve 24 downregüle lncRNA tanımlamışlardır. Upregüle edilmiş lncRNA'lardan MSTRG.242001.1 ve MSTRG.169261.1, downregüle edilmiş lncRNA'lardan da lnc-MKRN2-42:1 ve GAS5:46'nın Parkinson hastaları arasında yüksek oranda eksprese edildiğini göstermişlerdir. Ayrıca lnc-MKRN2-42:1 ekspresyonunun PH şiddeti ile pozitif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Beyin omurilik sıvısı (BOS), merkezi sinir sistemi (CNS) ile doğrudan temas eden ve RNA transkriptlerinin uzun süre kalabildiği erişilebilir bir vücut sıvısıdır. Parkinson hastalarının BOS'unda farklı şekilde eksprese edilen lncRNA'lar üzerine yapılmış çalışmada iki lncRNA; AC079630 ve LRRK2 lokusu üzerinde yer alan UC001va.4, sağlıklı kontrollere kıyasla PH'li hastaların BOS'unda *downregüle* olduğu bulunmuştur (Hosseini-Nezhad vd 2016).

Ni vd (2017) Parkinson hastalarının substantia nigra'sında ifade edilen lncRNA ekspresyon profillerini araştırdıkları çalışmalarında, PH'li hastalarda belirgin olarak lncRNA AL049437'nin *upregüle* olduğu, lncRNA AK021630'un ise *downregüle* olduğu bulunmuştur. Ayrıca, SH-SY5Y hücrelerinde lncRNA AL049437 ve AK021630'un ekspresyonuna müdahale edilmiş ve AL049437'nin yıkılmasının mitokondriyal membran potansiyelini ve SH-SY5Y hücre canlılığını arttırdığını, AK021630'un yıkılmasının ise zıt sonuçlar doğurabileceğini ortaya çıkarmışlardır. Bu *in vitro* sonuçlar ile Ni vd (2017), lncRNA AL049437'nin PH patogenezinde rol oynadığını, lncRNA AK021630'un ise PH oluşumunu baskılayabileceğini ve terapötik bir hedef olarak hizmet edebileceğini göstermişlerdir.

Parkinson hastalarının beyin dokularında farklı şekilde eksprese edilen lncRNA'ları belirleyen başka bir çalışmada biyobelirteç olarak hizmet edebilecek beş lncRNA; H19 (HUC1 ve HUC2), lincRNA-p21, MALAT1, SNHG1 ve TncRNA tanımlanmıştır. Çalışmada lncRNA-p21, MALAT1, SNHG1 ve TncRNA 'in önemli ölçüde artmış ifadeye sahip oldukları bulunmuştur. Dikkat çekici bir şekilde, bu düzensiz lncRNA'lar PH'nin erken evrelerinde gözlenmiş ve hastalığın seyrinden önce ortaya çıkmıştır (Kraus vd 2017).

Elkouris vd (2019), bir dizi lncRNA'nın, SNCA, LRRK2, PINK1, DJ-1, UCH-L1, MAPT ve GBA1 gibi PH'ye bağlı genlerin ekspresyonunu değiştirebileceğini ve böylece PH'den etkilenen beyin bölgeleri ile spesifik lncRNA'lar arasında bir korelasyon oluşturduğunu göstermiştir. Çalışmada altı lncRNA'nın; SNCA-AS1, AK127687, UCHL1-AS1, PINK1-AS1, AX747125 ve MAPT-AS1'nin SN'de ve bunlardan üçünün; AK127687, UCHL1-AS1 ve MAPT AS1, Parkinson hastalarının serebellumunda kontrollere kıyasla daha az ifade edildiği bulunmuştur.

Sirküler RNA'lar (circRNA'lar), nöronlarda yaşlanma ile biriken kodlamayan RNA'lardandır. Parkinson hastalarının periferik kanında düzensizliği olan circRNA'ları tanımlayan ilk çalışma Ravanidis vd (2021) tarafından gerçekleştirilmiştir. Amacı idiopatik Parkinson hastalarının PBMC'lerinde farklı şekilde eksprese edilen circRNA'ları belirlemek olan çalışmanın sonucunda, MAPK9, HOMER1, SLAIN1, DOP1B, REPS1 ve PSEN1 transkriptlerinden türetilen altı circRNA'nın Parkinson hastalarında önemli ölçüde *downregüle* olduğu bulunmuştur. Altı *downregüle* edilmiş circRNA'dan dördü PH için makul hassasiyet ve özgüllük sağlamış ve düzensizleştirilmiş circRNA'ların çoğu tarafından bağlanan RNA bağlayıcı proteinlerin (RBP), nörodejenerasyonla ilişkili FUS, TDP43, FMR1 ve ATXN2'yi içerdiğini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak düzenlenmemiş circRNA'ların beyinde yüksek oranda eksprese edilmelerinden dolayı tanısal biyobelirteçler olarak hizmet edebileceklerini öngörmüşlerdir.

Hastalıkla ilişkili yeni genleri ve ilgili mekanizmalarını ortaya çıkarmak için *in vitro* olarak yapılan çalışmada Lin vd (2018) alfa-sinüklein oligomerleri tarafından indüklenen SY-SH5Y hücre modelin, tipik bir PH patolojik belirteci gösterdiğini doğrulamışlardır. Ayrıca bu modelde, G046036, G030771, AC009365.4, RPS14P3, CTB-11122.1, G007549 gibi farklı şekilde eksprese edilmiş birkaç lncRNA ve mRNA tanımlanmıştır.

Otozomal dominant PH ile bağlantılı A30P ve A53T mutasyonlarına uğramış alfa-sinükleini aşırı eksprese eden presemptomatik farelerin substantia nigra pars compacta'sında (SNpc) yaklaşık 756 lncRNA'nın anormal ekspresyonu tespit

edilmiştir. LncRNA'larla birlikte eksprese edilen mRNA'lar, esas olarak akson yönlendirmeli sinyal yolunda yoğunlaşmıştır. Bu çalışma ilk olarak mutant alfa-sinükleinin neden olduğu erken PH ile ilişkili bir dizi yeni lncRNA'yı tanımlamıştır (Jiao vd 2017).

LncRNA MEG3, kanser biyolojisinde iyi karakterize edilmiş bir tümör baskılayıcıdır (Qin vd 2013). Huang vd (2021) lncRNA MEG3'ün PH'ye katılımını ve LRRK2 arasındaki etkileşimi araştıran bir çalışma gerçekleştirerek, MEG3'ün sağlıklı kontrollere kıyasla Parkinson hastalarında önemli ölçüde *downregüle* olduğunu belirlemişlerdir. MEG3 ayrıca MPP+ ile tedavi edilen SH-SY5Y hücrelerinde *downregüle* olduğu ve aşırı ekspresyonunun, SH-SY5Y hücrelerinde lösin açısından zengin tekrar kinaz 2'nin (LRRK2) ekspresyon seviyesini artırdığını belirlemişlerdir. MEG3'ün aşırı ekspresyonunun, MPP+ ile önceden tedavi edilmiş SH-SY5Y hücrelerinin canlılığını iyileştirmesi ve apoptozunu inhibe etmesi ile PH'yi iyileştirebileceğini bildirmişlerdir. Apoptoz ve otofajinin PH'de oldukça önemli role sahiptir ve OTUD6B-AS1'in apoptozu düzenlediği de bildirilmektedir (Takata vd 2019). Bu çalışmada mikrodizin analiziyle hastalarda *upregüle* olduğu belirlenen OTUD6B-AS1'in Parkinson hastalığındaki etkisinin ileriye dönük moleküler çalışmalarla araştırılmasının önemli olacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Parkinson hastalarının periferik kan örneklerinde olası belirteçlerin tanımlanmasını hedefleyen çalışmamızda, lncRNA'lar ve onların hedef mRNA'larının ekspresyonlarını belirledik ve aşağıdaki sonuçlara vardık:

- Parkinson hastalarında 13 *upregüle* ve 31 *downregüle* lncRNA saptandı.
- Mikrodizin analizi sonucu azalmış ekspresyon gösteren LEF1-AS1'in qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı bulundu.
- LIN7C ve PKIA-AS1 lncRNA'ları mikrodizin analizi ile uyumlu şekilde artan ekspresyon gösterdi.
- Hastalarda kontrole kıyasla FAM215A'nın *downregüle*, LOC105377225'in *upregüle* olduğu bulundu.
- Mikrodizin analizi sonucu azalmış ekspresyon gösteren EOMES, LHX3 mRNA'larının qRT-PCR sonucunda ifadesinin arttığı bulundu. Diğer yandan SRSF10 ve SMAD2 mRNA'larının mikrodizin analizi ile uyumlu

şekilde artan ekspresyon gösterdikleri bulundu.

- LHX3 ve EOMES mRNA'ları ve LIN7C istatistiksel olarak anlamlı bulundu.
- Mikrodizin analizinde OTUD6B-AS1 hastalarda kontrole kıyasla *upregüle* bulundu.
- Gen ontoloji analizi sonucu; makromolekül metabolik süreçler, bağışıklık sistemi, gen ifadesi, hücre aktivasyonu, ATPaz aktivitesi, DNA paketleme kompleksi, sinyal alıcı aktivite, bağışıklık reseptör aktivitesi, protein bağlama gibi süreçler anlamlı bulundu.

Bu araştırmadaki bulguların, Parkinson hastalarının periferik kanında yapılacak yeni hedef lncRNA araştırmalarına katkı sağlayacağı kanısındayız. Ayrıca OTUD6B-AS1'in PH'deki apoptotik etkisinin ileriye dönük moleküler çalışmalarla daha fazla araştırılmasının önemli olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

Aasly JO. Long-Term Outcomes of Genetic Parkinson's Disease. **J Mov Disord** 2020;13(2):81-96.

Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, Shinsky N, Verdugo JMG, Armanini M, Ryan A, Hynes M, Phillips H, Sulzer D, Rosenthal A. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. **Neuron** 2000;25(1):239-352.

Alqu zar C, Barrio E, Esteras N, de la Encarnaci n A, Bartolom  F, Molina JA, Mart n-Requero A. Targeting cyclin D3/CDK6 activity for treatment of Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry** 2015;133:886-897.

Amer AA and Baltimore D. An essential role for NF-kB in preventing TNF-alpha-induced cell death. **Science** 1996;274(5288):782-784.

Amor S, Puentes F, Baker D, van der Valk P. Inflammation in Neurodegenerative Diseases. **Immunology** 2010;129(2):154-169.

Arena G and Valente EM. PINK1 in the limelight: multiple functions of an eclectic protein in human health and disease. **J Pathol** 2017;241(2):251-263.

Atz M, Walsh D, Cartagena P, Li J, Evans S, Choudary P, Overman K, Stein R, Tomita H, Potkin S, Myers R, Watson SJ, Jones EG, Akil H, Bunney WE, Vawter MP.

Methodological considerations for gene expression profiling of human brain. *J Neurosci Methods* 2007;163(2):295-309.

Bagheri H, Damase-Michel C, Lapeyre-Mestre M, Cismondo S, O'Connell D, Senard JM, Rascol O, Montastruc JL. A study of salivary secretion in Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1999;22(4):213-215.

Bharadwaj M, Mifsud NA, and McCluskey J. Detection and Characterisation of Alloreactive T Cells. *PubMed* 2012;882:309-337.

Bardien S, Lesage S, Brice A, Carr J. Genetic characteristics of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disor* 2011;17(7):501-508.

Benito-Leon J, Bermejo-Pareja F, Rodriguez J, Molina JA, Gabriel R, Morales JM. Prevalence of PH and other types of parkinsonism in three elderly populations of central Spain. *Mov Disord* 2003;18(3):267-274.

Berardelli A, Rothwell JC, Thompson PH, Hallett M. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain* 2001;124:2131-2146.

Berg D, Postuma RB, Adler CH, Bloem BR, Chan P, Dubois B, Gasser T, Goetz CG, Halliday G, Joseph L, Lang AE, Liepelt-Scarfone I, Litvan I, Marek K, Obeso J, Oertel W, Olanow CW, Poewe W, Stern M, Deuschl G. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease *Mov Disord* 2015;30(12):1600-1611.

Bhattacharya S and Ghosh MK. Cell death and deubiquitinases: perspectives in cancer. *Biomed Res Int* 2014;2014:435197.

Biskup S, Moore DJ, Celsi F, Higashi S, West AB, Andrabi SA, Kurkinen K, Yu SW, Savitt JM, Waldvogel HJ, Faull RLM, Emson PC, Torp R, Ottersen OP, Dawson TM, Dawson VL. Localization of LRRK2 to membranous and vesicular structures in mammalian brain. *Ann Neurol* 2006;60(5):557-569.

Bohlhalter S and Kaegi G. Parkinsonism: heterogeneity of a common neurological syndrome. *Swiss Medical Weekly* 2011;141(4344).

Bolisetty S and Jaimes EA. Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *Int J Mol Sci* 2013;14(3):6306-6344.

Bonifati V. Genetics of Parkinson's disease – state of the art, 2013. *Parkinsonism Relat Disord* 2014;20(1):23-28.

Bonifati V, Rizzu P, Squitieri F, Krieger E, Vanacore N, van Swieten JC, Brice A, van Duijn CM, Oostra B, Meco G, Heutink P. DJ-1(PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neurol Sci* 2003;24(3):159-160.

Boros FA, Maszlag-Torok R, Vecsei L, Klivenyi P. Increased level of NEAT1 long non-coding RNA is detectable in peripheral blood cells of patients with Parkinson's disease. *Brain Res* 2020;1730:146672.

Bousard A, Raposo AC, Zyllicz JJ, Picard C, Pires VB, Qi Y, Gil C, Syx L, Chang HY, Heard E, da Rocha ST. The role of Xist-mediated Polycomb recruitment in the initiation of X-chromosome inactivation. *EMBO Rep* 2019;20(10):e48019.

Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Incidence and distribution of parkinsonism in Olmsted County, Minnesota, 1976-1990. **Neurology** 1999;52:1214-1220.

Braak H and Del Tredici K. Neuroanatomy and pathology of sporadic Parkinson's disease. **Adv Anat Embryol Cell Biol** 2009;201:1-119.

Braak H, Del Tredici K, Gai WP, Braak E. Alpha-synuclein is not a requisite component of synaptic boutons in the adult human central nervous system. **J Chem Neuroanat** 2000;20:245-252.

Bretzner F and Brownstone RM. Lhx3-Chx10 Reticulospinal Neurons in Locomotor Circuits. **Journal of Neuroscience** 2013;33(37):14681-14692.

Brochard V, Combadière B, Prigent A, Laouar Y, Perrin A, Beray-Berthet V, Bonduelle O, Alvarez-Fischer D, Callebert J, Launay JM, Duyckaerts C, Flavell RA, Hirsch EC, Hunot S. Infiltration of CD4(+) lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. **J Clin Investig** 2009;119(1):182-92.

Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, Rinn JL. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. **Genes Dev** 2011;25(8):1915-1927.

Cai L, Tu LI, Li T, Yang X, Ren Y, Gu R, Zhang Q, Yao H, Qu X, Wang Q, Tian J. Downregulation of lncRNA UCA1 ameliorates the damage of dopaminergic neurons, reduces oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease through the inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway. **Int Immunopharmacol** 2019;75:105734.

Carrieri C, Forrest AR, Santoro C, Persichetti F, Carninci P, Zucchelli S, Gustincich S. Expression analysis of the long non-coding RNA antisense to Uchl1 (AS Uchl1) during dopaminergic cells' differentiation in vitro and in neurochemical models of Parkinson's disease. **Front Cell Neurosci** 2015;9:114.

Carson MJ, Thrash JC, Walter B. The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. **Clin Neurosci Res** 2006;6(5):237-245.

Chaudhuri KR, Prieto-Jurcynska C, Naidu Y, Mitra T, Frades-Payo B, Tluk S, Ruessmann A, Odin P, Macphee G, Stocchi F, Ondo W, Sethi K, Schapira AHV, Castrillo JCM, Martinez-Martin P. The nondeclaration of nonmotor symptoms of Parkinson's disease to health care professionals: an international study using the nonmotor symptoms questionnaire. **Mov Disord** 2010;25(6):704-709.

Cheng Z, Yu C, Cui S, Wang H, Jin H, Wang C, Li B, Qin M, Yang C, He J, Zuo Q, Wang S, Liu J, Ye W, Lv Y, Zhao F, Yao M, Jiang L, Qin W. circTP63 functions as a ceRNA to promote lung squamous cell carcinoma progression by upregulating FOXM1. **Nat Commun** 2019;10(1):3200.

Chen Q, Huang X, Li R. lncRNA MALAT1/miR-205-5p axis regulates MPP(+)-induced cell apoptosis in MN9D cells by directly targeting LRRK2. **Am J Transl Res** 2018;10(2):563-572.

Chen WM, Chen WD, Jiang XM, Jia XF, Wang HM, Zhang QJ, Shu YQ, Zhao HB. HOX transcript antisense intergenic RNA represses E-cadherin expression by binding to EZH2 in gastric cancer. **World J Gastroenterol** 2017;23(33):6100-6110.

Chi LM, Wang LP, Jiao D. Identification of Differentially Expressed Genes and Long Noncoding RNAs Associated with Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease* 2019;6078251:1-7.

Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Front Cell Neurosci* 2015;9:124.

Chu CT. A pivotal role for PINK 1 and autophagy in mitochondrial quality control: implications for Parkinson Disease. *Hum Mol Genet* 2010;19:28-37.

Colognori D, Sunwoo H, Kriz AJ, Wang CY, Lee JT. Xist Deletional Analysis Reveals an Interdependency between Xist RNA and Polycomb Complexes for Spreading along the Inactive X. *Mol Cell* 2019;74(1):101-117.

Coupland KG, Kim WS, Halliday GM, Hallupp M, Dobson-Stone C, Kwok JB. Role of the long non-coding RNA MAPTAS1 in regulation of microtubule associated protein tau (MAPT) expression in Parkinson's disease. *PLoS ONE* 2016;11(6):e0157924.

Cui SY, Zhang W, Cui ZM, Yi H, Xu DW, Liu W, Zhu XH. Knockdown of long non-coding RNA LEF1-AS1 attenuates apoptosis and inflammatory injury of microglia cells following spinal cord injury. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* 2021;16(1):1-11.

Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Brain* 1999;122:1437-1448.

Das G, Misra AK, Das SK, Ray K, Ray J. Microtubule-associated protein tau (MAPT) influences the risk of Parkinson's disease among Indians. *Neurosci Lett* 2009;460(1):16-20.

Dauvilliers Y, Jennum P, Plazzi G. Rapid eye movement sleep behavior disorder and rapid eye movement sleep without atonia in narcolepsy. *Sleep Med* 2013;14(8):775-781.

De Lau LML and Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006;5(6):525-538.

De Lau LML, Giesbergen PCLM, de Rijk MC, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB. Incidence of parkinsonism and Parkinson disease in a general population: the Rotterdam Study. *Neurology* 2004;63(7):1240-1244.

De Rijk MC, Rocca WA, Anderson D, Melcon M, Breteler M, Maraganore D. A population perspective on diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Neurology* 1997;48(5):1277-1281.

Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, Guernec G, Martin D, Merkel A, Knowles DG, Lagarde J, Veeravalli L, Ruan X, Ruan Y, Lassmann T, Carninci P, Brown JB, Lipovich L, Gonzalez JM, Thomas M, Davis CA, Shiekhhattar R, Gingeras TR, Hubbard TJ, Notredame C, Harrow J, Guigó R. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome research* 2012;22(9):1775-1789.

Devaux Y, Zangrando J, Schroen B, Creemers EE, Pedrazzini T, Chang CP, Dorn GW, Thum T, Heymans S; Cardioline network. Long noncoding RNAs in cardiac development and ageing. *Nat Rev Cardiol* 2015;12(7):415-425.

Ding XM, Zhao LJ, Qiao HY, Wu SL, Wang XH. Long non-coding RNA-p21 regulates MPP(+)-induced neuronal injury by targeting miR-625 and derepressing TRPM2 in SH-SY5Y cells. *Chem Biol Interact* 2019;307:73-81.

DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem* 2016;139(2):136-153.

Elia AE, Petrucci S, Fasano A, Guidi M, Valbonesi S, Bernardini L, Consoli F, Ferraris A, Albanese A, Valente EM. Alpha-synuclein gene duplication: marked intrafamilial variability in two novel pedigrees. *Mov Disord* 2013;28(6):813-817.

Elkouris M, Kouroupi G, Vourvoukelis A, Papagiannakis N, Kaltezioti V, Matsas R, Stefanis L, Xilouri M, Politis PK. Long non-coding RNAs associated with neurodegeneration-linked genes are reduced in Parkinson's disease patients. *Front Cell Neurosci* 2019;13:58.

Engelhardt JF. Redox-mediated gene therapies for environmental injury: approaches and concepts. *Antioxid Redox Signal* 1999;1(1):5-27.

Ertan S ve Benbir G. Parkinson hastalığında Dopamin Disregülasyon Sendromu ve Diğer Psikiyatrik Sorunlar: Tanı ve Tedavisi. *Turk J Neurol* 2011;17(2):65-75.

Farrer MJ. Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects. *Nat Rev Genet* 2006;7(4):306-318.

Fatica A and Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nature Reviews Genetics* 2013;15(1):7-21.

Fischer R and Maier O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:610813.

Fuchs J, Nilsson C, Kachergus J, Munz M, Larsson EM, Schule B, Langston JW, Middleton FA, Ross OA, Hulihan M, Gasser T, Farrer MJ. Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology* 2007;68(12):916-922.

Gandhi S, Muqit MM, Stanyer L, Healy DG, Abou-Sleiman PM, Hargreaves I, Heales S, Ganguly M, Parsons L, Lees AJ, Latchman DS, Holton JL, Wood NW, Revesz T. PINK1 protein in normal human brain and Parkinson's disease. *Brain* 2006;129(7):1720-1731.

Gao N, Li Y, Li J, Gao Z, Yang Z, Li Y, Liu H, Fan T. Long Non-Coding RNAs: The Regulatory Mechanisms, Research Strategies, and Future Directions in Cancers. *Front Oncol* 2020;10:598817.

Gasic GP and Hollmann M. Molecular Neurobiology of Glutamate Receptors. *Annu Rev Physiol* 1992;54:507-536.

Gibb WR and Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51(6):745-752.

Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. **Nature** 2010;464:1071-1076.

Guttman M. and Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. **Nature** 2012;482(7385):339-346.

Gwinn K, David KK, Swanson-Fischer C, Albin R, Hillaire-Clarke, CS, Sieber BA, Lungu C, Dubois Bowman F, Alcalay RN, Babcock D, Dawson TM, Dewey RB, Foroud T, German D, Huang X, Petyuk V, Potashkin JA, Saunders-Pullman R, Sutherland M, Walt DR, West AB, Zhang J, Chen-Plotkin A, Scherzer CR, Vaillancourt DE, Rosenthal LS. Parkinson's disease biomarkers: perspective from the NINDS Parkinson's Disease biomarkers program. **Biomark Med** 2017;11(6)451-473.

Han L, Zhang K, Shi Z, Zhang J, Zhu J, Zhu S, Zhang A, Jia Z, Wang G, Yu S, Pu P, Dong L, Kang C. LncRNA profile of glioblastoma reveals the potential role of lncRNAs in contributing to glioblastoma pathogenesis. **Int J Oncol** 2012;40(6):2004-2012.

Healy DG, Abou-Sleiman PM, Casas JP, Ahmadi KR, Lynch T, Gandhi S, Muqit MMK, Foltynie T, Barker R, Bhatia KP, Quinn NP, Lees AJ, Gibson JM, Holton JL, Revesz T, Goldstein DB, Wood NW. UCHL-1 is not a Parkinson's disease susceptibility gene. **Ann Neurol** 2006;59(4):627-633.

Healy DG, Falchi M, O'Sullivan SS, Bonifati V, Durr A, Bressman S, Brice A, Aasly J, Zabetian CP, Goldwurm S, Ferreira JJ, Tolosa E, Kay DM, Klein C, Williams DR, Marras C, Lang AE, Wszolek ZK, Berciano J, Schapira AHV, Lynch T, Bhatia KP, Gasser T, Lees AJ, Wood NW, International LRRK2 Consortium. Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson's disease: A case-control study. **Lancet Neurol** 2008;7(7):583-590.

Henchcliffe C and Beal MF. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. **Nat Clin Pract Neurol** 2008;4(11):600-609.

Hernán MA, Takkouche B, Caamaño-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. **Ann Neurol** 2002;52(3):276-284.

Hossein-Nezhad A., Fatemi RP, Ahmad R, Peskind ER, Zabetian CP, Hu SC, Shi M, Wahlestedt C, Zhang J, Faghihi MA. Transcriptomic profiling of extracellular RNAs present in cerebrospinal fluid identifies differentially expressed transcripts in Parkinson's disease. **J Parkinsons Dis** 2016;6(1):109-117.

Huang H, Zheng S, Lu M. Downregulation of lncRNA MEG3 is involved in Parkinson's disease. **Metabolic Brain Disease** 2021;36:2323-2328.

Hughes AJ, Daniel SE, Ben Shlomo Y, Lees AJ. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. **Brain** 2002;125(4):861-870.

Hu J-Z, Rong Z-J, Li M, Li P, Jiang LY, Luo ZX, Duan CY, Cao Y, Lu HB. Silencing of lncRNA PKIA-AS1 attenuates spinal nerve ligation-induced neuropathic pain through epigenetic downregulation of CDK6 expression. **Front Cell Neurosci** 2019;13:50.

Inamura K. Major Tumor Suppressor and Oncogenic Non-Coding RNAs: Clinical Relevance in Lung Cancer. **Cells** 2017;6(2):12.

Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, Akiyoshi S, Sasaki S, Iwaya T, Sudo T, Sugimachi K, Mimori K, Wakabayashi G, Mori M. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. ***Oncol Rep*** 2013;29(3):946-950.

Jankovic JJ and Tolosa E. Parkinson's Disease and Movement Disorders. eds. Lippincott Williams and Wilkins, ***European Journal of Neurology***, Philadelphia, 2002, s.704.

Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. ***J Neurol Neurosurg Psychiatry*** 2008;79(4):368-376.

Jeong S. SR Proteins: Binders, Regulators, and Connectors of RNA. ***Mol Cells*** 2017;40(1):1-9.

Jia N, Sun Q, Su Q, Chen G. SIRT1- mediated deacetylation of PGC1 α attributes to the protection of curcumin against glutamate excitotoxicity in cortical neurons. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2016;478(3):1376-1381.

Jiao F, Wang Q, Zhang P, Bu L, Yan J, Tian B. Expression signatures of long non-coding RNA in the substantia nigra of pre-symptomatic mouse model of Parkinson's disease. ***Behav Brain Res*** 2017;331:123-130.

Kalia LV and Lang AE. Parkinson's disease. ***Lancet*** 2015;386(9996):896-912.

Kalinderi, K, Bostantjopoulou S, Fidani L. The genetic background of Parkinson's disease: current progress and future prospects. ***Acta Neurol Scand*** 2016;134(5):314-326.

Kannarkat GT, Boss JM, Tansey MG. The role of innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. ***J Parkinsons Dis*** 2013;3(4):493-514.

Kim J, Fiesel FC, Belmonte KC, Hudec R, Wang WX, Kim C, Nelson PT, Springer W, Kim J. miR-27a and miR-27b regulate autophagic clearance of damaged mitochondria by targeting PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1). ***Mol Neurodegener*** 2016;11(55):1-15.

Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, Bradley RK, Fields PA, Steinhauser ML, Ding H, Butty VL, Torrey L, Haas S, Abo R, Tabebordbar M, Lee RT, Burge CB, Boyer LA. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment. ***Cell*** 2013;152(3):570-583.

Klein C and Westenberger A. Genetics of Parkinson's Disease. ***Cold Spring Harb Perspect Med*** 2012;2(1):1-15.

Kraus TFJ, Haider M, Spanner J, Steinmaurer M, Dietinger V, Kretschmar HA. Altered Long Noncoding RNA Expression Precedes the Course of Parkinson's Disease-a Preliminary Report. ***Mol Neurobiol*** 2017;54(4):2869-2877.

Krüger R, Kuhn W, Müller T, Voitalla D, Graeber M, Kösel S, Przuntek H, Epplen JT, Schöls L, Riess O. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. ***Nat Genet*** 1998;18(2):106-108.

Kudriaeva AA and Belogurov AA. Proteasome: A nanomachinery of creative destruction. ***Biochemistry (Mosc)*** 2019;84(1):159-192.

Kumarswamy R, Bauters C, Volkmann I, Maury F, Fetisch J, Holzmann A, Lemesle G, de Groote P, Pinet F, Thum T. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. **Circ Res** 2014;114(10):1569-1575.

Küçükali Cİ, Akbayır E, Şen M, Ay U, Şenyer S, Tüzün E. Parkinson hastalığının etyopatogenezi. **Deneyisel Tıp Dergisi** 2017;7(13):1-23.

Lagna G, Hata A, Hemmati-Brivanlou A, Massagué J. Partnership between DPC4 and SMAD proteins in TGF- β signalling pathways. **Nature** 1996;383:832-836.

Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. **Nature** 2001;409(6822):860-921.

Langston JW, Ballard PA, Tetrud JW, Irwin I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analog synthesis. **Science** 1983;219(4587):979-980.

Lee B, Sahoo A, Marchica J, Holzhauser E, Chen X, Li JL, Seki T, Govindarajan SS, Markey FB, Batish M, Lokhande SJ, Zhang S, Ray A, Perera RJ. The long noncoding RNA SPRIGHTLY acts as an intranuclear organizing hub for pre-mRNA molecules. **Sci Adv** 2017;3(5):e1602505.

Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. **Lancet** 2009;373(9680):2055-2066.

Lev N and Melamed E. Heredity in Parkinson's Disease: New Findings. **IMAJ** 2001;3(6):435-438.

Liang S, Gong X, Zhang G, Huang G, Lu Y, Li Y. The lncRNA XIST interacts with miR-140/miR-124/iASPP axis to promote pancreatic carcinoma growth. **Oncotarget** 2017;8(69):113701-113718.

Li JQ, Tan L, Yu JT. The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism. **Mol Neurodegener** 2014;9:47.

Li PP, Li RG, Huang YQ, Lu JP, Zhang WJ, Wang ZY. LncRNA OTUD6B-AS1 promotes paclitaxel resistance in triple negative breast cancer by regulation of miR-26a-5p/MTDH pathway-mediated autophagy and genomic instability. **Aging (Albany NY)** 2021;13(21):24171-24191.

Lin D, Liang Y, Jing X, Chen Y, Lei M, Zeng Z, Zhou T, Wu X, Peng S, Zheng D, Huang K, Yang L, Xiao S, Liu J, Tao E. Microarray analysis of an synthetic α -synuclein induced cellular model reveals the expression profile of long non-coding RNA in Parkinson's disease. **Brain Res** 2018;1678:384-396.

Lin MF, Jungreis I, Kellis M. PhyloCSF: a comparative genomics method to distinguish protein coding and non-coding regions. **Bioinformatics** 2011;27(13):275-282.

Lin Q, Hou S, Dai Y, Jiang N, Lin Y. LncRNA HOTAIR targets miR-126-5p to promote the progression of Parkinson's disease through RAB3IP. **Biol Chem** 2019;400:1217-1228.

Lin Y, Guo W, Li N, Fu F, Lin S, Wang C. Polymorphisms of long non-coding RNA HOTAIR with breast cancer susceptibility and clinical outcomes for a southeast Chinese Han population. **Oncotarget** 2017;9(3):3677-3689.

Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY, Chen RC. Environmental risk factors and Parkinson's disease: A case-control study in Taiwan. **Neurology** 1997;48(6):1583-1588.

Lipton SA and Rosenberg PA. Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurologic disorders. **N Engl J Med** 1994;330(9):613-622.

Litvan I, Bhatia KP, Burn DJ, Goetz CG, Lang AE, McKeith I, Quinn N, Sethi KD, Shults C, Wenning GK, Movement Disorders Society Scientific Issues Committee. Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for parkinsonian disorders. **Mov Disord** 2003;18(5):467-486.

Liu B and Hong JS. Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative disease: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. **J Pharmacol Exp Ther** 2003;304(1):1-7.

Liu Q, Sun S, Yu W, Jiang J, Zhuo F, Qiu G, Xu S, Jiang X. Altered expression of long non-coding RNAs during genotoxic stress-induced cell death in human glioma cells. **J Neurooncol** 2015;122(2):283-292.

Liu W, Zhang Q, Zhang J, Pan W, Zhao J, Xu Y. Long non-coding RNA MALAT1 contributes to cell apoptosis by sponging miR-124 in Parkinson disease. **Cell Biosci** 2017;7:19.

Liu Y, Fallon L, Lashuel HA, Liu Z, Lansbury PT Jr. The UCHL1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect alpha-synuclein degradation and Parkinson's disease susceptibility. **Cell** 2002;111(2):209-218.

Li X, Li K, Chen Y, Fang F. The Role of Hippo Signaling Pathway in the Development of the Nervous System. **Dev Neurosci** 2021;43(5):263-270.

Lu M, Sun WL, Shen J, Wei M, Chen B, Qi YJ, Xu CS. LncRNA-UCA1 promotes PH development by upregulating SNCA. **Eur Rev Med Pharmacol Sci** 2018;22(22):7908-7915.

Lv Q, Wang Z, Zhong Z, Huang W. Role of Long Noncoding RNAs in Parkinson's Disease: Putative Biomarkers and Therapeutic Targets. **Hindawi** 2020;12:1-12.

Lyu Y, Bai L, Qin C. Long noncoding RNAs in neurodevelopment and Parkinson's disease. **Animal Model Exp Med** 2019;2(4):239-251.

Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A, Chartier-Harlin MC, Gasser T, Kruger R, Hattori N, Mellick GD, Quattrone A, Satoh JI, Toda T, Wang J, Ioannidis JPA, de Andrade M, Rocca WA, UCHL1 Global Genetics Consortium. UCHL1 is a Parkinson's disease susceptibility gene. **Ann Neurol** 2004;55(4):512-521.

Massague J. TGF-beta signal transduction. **Annu Rev Biochem** 1998;67:753-791.

Mehta A, Prabhakar M, Kumar P, Deshmukh R, Sharma P. Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. **Eur J Pharmacol** 2013;698(1-3):6-18.

Mendonça DA and Jog MS. Tasks of Attention Augment Rigidity in Mild Parkinson Disease. **Can J Neurol Sci** 2008;35(4):501-505.

Meng Q, Ren M, Li Y, Song X. LncRNA-RMRP Acts as an Oncogene in Lung Cancer. **PLoS One** 2016;11(12):e0164845.

Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long noncoding RNAs: insights into functions. **Nature Reviews Genetics** 2009;10(3):155-159.

Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM, Mehler MF, Mattick JS. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(2):716-721.

Messemaker TC, Chadli L, Cai G, Goelela VS, Boonstra M, Annemarie L Dorjée AL, Andersen SN, Mikkers HMM, Hof PV, Mei H, Distler O, Draisma HHM, Johnson ME, Orzechowski NM, Simms RW, Toes REM, Aarbiou J, Huizinga TW, Whitfield ML, DeGroot J, de Vries-Bouwstra J, Kurreeman F. Antisense Long Non-Coding RNAs Are Deregulated in Skin Tissue of Patients with Systemic Sclerosis. *J Invest Dermatol* 2018;138(4):826-835.

Michel PP, Hirsch EC, Hunot S. Understanding dopaminergic cell death pathways in parkinson disease. *Neuron* 2016;90(4):675-691.

Miller DB, O'Callaghan JP. Biomarkers of Parkinson's disease: Present and future. *Metabolism* 2015;64(3):40-46.

Moon HE and Paek SH. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol* 2015;24(2):103-116.

Mullen RD, Colvin SC, Hunter CS, Savage JJ, Walvoord EC, Bhangoo AP, Ten S, Weigel J, Pfaeffle RW, Rhodes SJ. Roles of the LHX3 and LHX4 LIM-homeodomain factors in pituitary development. *Mol Cell Endocrinol* 2007;400(1-2):44-51.

Niu M, Xu R, Wang J, Hou B, Xie A. MiR-133b ameliorates axon degeneration induced by MPP(+) via targeting RhoA. *Neuroscience* 2016;325:39-49.

Ni Y, Huang H, Chen Y, Cao M, Zhou H, Zhang Y. Investigation of long non-coding RNA expression profiles in the substantia nigra of Parkinson's disease. *Cell Mol Neurobiol* 2017;37(2):329-338.

Ng SY, Lin L, Soh BS, Stanton LW. Long noncoding RNAs in development and disease of the central nervous system. *Trends Genet* 2013;29(8):461-468.

Nussbaum RL and Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1356-1364.

Oki S. Eomes-expressing T-helper cells as potential target of therapy in chronic neuroinflammation. *Neurochemistry International* 2019;130:104348.

Olanow CW. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2007;22(17):335-342.

Osaka H, Wang YL, Takada K, Takizawa S, Setsuie R, Li H, Sato Y, Nishikawa K, Sun YJ, Sakurai M, Harada T, Hara Y, Kimura I, Chiba S, Namikawa K, Kiyama H, Noda M, Aoki S, Wada K. Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. *Human Molecular Genetics* 2003;12(16):1945-1958.

O'Sullivan SS, Evans AH, Lees AJ. Dopamine Dysregulation Syndrome. *CNS Drugs* 2009;23(2):157-170.

Paisan-Ruiz C, Nath P, Washecka N, Gibbs JR, Singleton AB. Comprehensive analysis of LRRK2 in publicly available Parkinson's disease cases and neurologically normal controls. *Hum Mutat* 2008;29(4):485-490.

Park A and Stacy M. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol* 2009;256(3):293-298.

Pasanen P, Myllykangas L, Siitonen M, Raunio A, Kaakkola S, Lyytinen J, Tienari PJ, Pöyhönen M, Paetau A. Novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology. **Neurobiol Aging** 2014;35:2180.e1-2180.e5.

Pearce JM, Aspects of the history of Parkinson's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry** 1989;52:6-10.

Peng B, Cao J, Yi S, Wang C, Zheng G, He Z. Inhibition of proliferation and induction of G1-phase cell-cycle arrest by dFMGEN, a novel genistein derivative, in lung carcinoma A549 cells. **Drug Chem Toxicol** 2013;36:196-204.

Peschansky VJ and Wahlestedt C. Non-coding RNAs as Direct and Indirect Modulators of Epigenetic Regulation. **Epigenetics** 2014;9(1):3-12.

Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, Sanges G, Stenroos ES, Pho LT, Schaffer AA, Lazzarini AM, Nussbaum RL, Duvoisin RC. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. **Science** 1996;274(5290):1197-1199.

Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. **Science** 1997;276(5321):2045-2047.

Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, Obeso J, Marek K, Litvan I, Lang AE, Halliday G, Goetz PG, Gasser T, Dubois B, Chan P, Bloem BT, Adler CH, Deuschl G. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. **Movement Disorders** 2015;30(12):1591-1601.

Pourahmad J and Salimi A. Isolated Human Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC), a Cost Effective Tool for Predicting Immunosuppressive Effects of Drugs and Xenobiotics. **Iran J Pharm Res** 2015;14(4):979.

Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy body. **J Neuropathol Exp Neurol** 1993;52(3):183-191.

Qi P and Du X. The long non-coding RNAs, a new cancer diagnostic and therapeutic gold mine. **Mod Pathol** 2013;26(2):155-165.

Quinn JJ and Chang HY. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. **Nat Rev Genet** 2016;17(1):47-62.

Qin R, Chen Z, Ding Y, Hao J, Hu J, Guo F. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation of cervical carcinoma cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. **Neoplasma** 2013;60(5):486-492.

Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. **Brain Res** 2010;1338:20-35.

Ravanidis S, Bougea A, Karampatsi D, Papagiannakis N, Maniati M, Stefanis L, Doxakis E. Differentially Expressed Circular RNAs in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Parkinson's Disease. **Movement Disorders** 2021;36(5):1170-1179.

Raveney BJE, Oki S, Hohjoh H, Nakamura M, Sato W, Murata M, Yamamura T. Eomesodermin-expressing T-helper cells are essential for chronic neuroinflammation. **Nat Commun** 2015;6:8437.

Reeve A, Simcox E, Turnbull D. Ageing and Parkinson's disease: Why is advancing age the biggest risk factor?. **Ageing Res Rev** 2014;14(100):19-30.

Ricciardi L, Petrucci S, Guidubaldi A, Ialongo T, Serra L, Ferraris A, Spanò B, Bozzali M, Valente EM, Bentivoglio AR. Phenotypic variability of PINK1 expression: 12 years' clinical follow-up of two Italian families. **Mov Disord** 2014;29:1561-1566.

Riggins GJ, Thiagalingam S, Rozenblum E, Weinstein CL, Kern SE, Hamilton SR, Willson JKV, Markowitz SD, Kinzler KW, Vogelstein B. Mad-related genes in the human. **Nature Genetics** 1996;13:347-349.

Riva P, Ratti A, Venturin M. The Lng Non-Coding RNAs in Neurodegenerative Diseases: Novel Mechanisms of Pathogenesis. **Curr Alzheimer Res** 2016;13(11):1219-1231.

Rizzone MG, Martone T, Balestrino R, Lopiano L. Genetic background and outcome of Deep Brain Stimulation in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord** 2019;64:8-19.

Sahu MR and Mondal AC. Neuronal Hippo signaling: From development to diseases. **Neurobiology** 2020;81(2):92-109.

Saunders JA, Estes KA, Kosloski LM, Allen HE, Dempsey KM, Torres-Russotto DR, Meza JL, Santamaria PM, Bertoni JM, Murman DL, Ali HH, Standaert DG, Mosley RL, Gendelman HE. CD4+ regulatory and effector/memory T cell subsets profile motor dysfunction in Parkinson's disease. **J Neuroimmune Pharmacol** 2012;7:927-938.

Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. **Nat Rev Neurosci** 2017;18(7):435-450.

Schapira AHV, Gu M, Taanman J-W, Tabrizi SJ, Seaton T, Cleeter M, Cooper JM. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. **Ann Neurol** 1998;44(1):89-98.

Schapira AHV. Science, medicine, and the future Parkinson's disease. **BMJ** 1999;318(7179):311-314.

Seaman MNJ, McCaffery JM, Emr SD. A membrane coat complex essential for endosome-to-Golgi retrograde transport in yeast. **J Cell Biol** 1998;142(3):665-681.

Seirafi M, Kozlov G, Gehring K. Parkin structure and function. **FEBS J** 2015;282(11):2076-2088.

Shendelman S, Jonason A, Martinat C, Leete T, Abeliovich A. DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation. **PLOS Biol** 2004;2(11):e362.

Shen M and Mattox W. Activation and repression functions of an SR splicing regulator depend on exonic versus intronic-binding position. **Nucleic Acids Res** 2012;40:428-437.

Shih RH, Wang CY, Yang CM. NF-kappaB Signaling Pathways in Neurological Inflammation: A Mini Review. **Front Mol Neurosci** 2015;8:77.

Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Iwai K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki T. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. **Nat Genet** 2000;25(3):302-305.

Shulskaya MV, Alieva AK, Vlasov IN, Zyrin VV, Fedotova EY, Abramycheva NY, Usenko TS, Yakimovsky AF, Emelyanov AK, Pchelina SN, Illarioshkin SN, Slominsky PA, Shadrina MI. Whole-Exome Sequencing in Searching for New Variants Associated With the Development of Parkinson's Disease. **Front Aging Neurosci** 2018;10:136.

Simchovitz A, Hanan M, Niederhoffer N, Madrer N, Yayon N, Bennett ER, Greenberg DS, Kadener S, Soreq H. NEAT1 is overexpressed in Parkinson's disease substantia nigra and confers drug-inducible neuroprotection from oxidative stress. **FASEB J** 2019;33(10):11223-11234.

Song JH, Kang KS, Choi YK. Protective effect of casuarinin against glutamate-induced apoptosis in HT22 cells through inhibition of oxidative stress-mediated MAPK phosphorylation. **Bioorg Med Chem Lett** 2017;23(5):5109-5113.

Soreq L, Guffanti A, Salomonis N, Simchovitz A, Israel Z, Bergman H, Soreq H. Long non-coding RNA and alternative splicing modulations in Parkinson's leukocytes identified by RNA sequencing. **PLoS Comput Biol** 2014;10(3):e1003517.

Soreq L, Salomonis N, Bronstein M, Greenberg DS, Israel Z, Bergman H, Soreq H. Small RNA sequencing-microarray analyses in Parkinson leukocytes reveal deep brain stimulation-induced splicing changes that classify brain region transcriptomes. **Front Mol Neurosci** 2013;6(10).

Soreq L, Salomonis N, Guffanti A, Bergman H, Israel Z, Soreq H. Whole transcriptome RNA sequencing data from blood leukocytes derived from Parkinson's disease patients prior to and following deep brain stimulation treatment. **Genom Data** 2015;3:57-60.

Spitale RC, Tsai MC, Chang HY. RNA templating the epigenome: long noncoding RNAs as molecular scaffolds. **Epigenetics** 2011;6(5):539-543.

Sunwoo JS, Lee ST, Im W, Lee M, Byun JI, Jung KH, Park KI, Jung KY, Lee SK, Chu K, Kim M. Altered expression of the long noncoding RNA NEAT1 in Huntington's disease. **Mol Neurobiol** 2017;54(2):1577-1586.

Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. Non-coding RNAs: regulators of disease. **J Pathol** 2010;220(2):126-139.

Takata M, Pachera E, Frank-Bertoncelj M, Kozlova A, Jüngel A, Whitfield ML, Assassi S, Calcagni M, de Vries-Bouwstra J, Huizinga TW, Kurreeman F, Kania G, Distler O. OTUD6B-AS1 Might Be a Novel Regulator of Apoptosis in Systemic Sclerosis. **Front Immunol** 2019;10:100.

Tani H, Onuma Y, Ito Y, Torimura M. Long non-coding RNAs as surrogate indicators for chemical stress responses in human-induced pluripotent stem cells. **PLoS ONE** 2014;9(8):e106282.

Tanner CM and Goldman SM. Epidemiology of Parkinson's disease. **Neurol Clin** 1996;14(2):317-335.

Taşdemir E. Parkinson hastalığında nöroinflamasyonun rolü. *Med J SDU* 2019;26(3):348-352.

Tesseur I, Nguyen A, Chang B, Li L, Woodling NS, Wyss-Coray T ve Luo J. Deficiency in Neuronal TGF- β Signaling Leads to Nigrostriatal Degeneration and Activation of TGF- β Signaling Protects against MPTP Neurotoxicity in Mice. *Journal of Neuroscience* 2017;37(17):4584-4592.

Tobin JE, Latourelle JC, Lew MF, Klein C, Suchowersky O, Shill HA, Golbe LI, Mark MH, Growdon JH, Wooten GF, Racette BA, Perlmutter JS, Watts R, Guttman M, Baker KB, Goldwurm S, Pezzoli G, Singer C, Saint-Hilaire MH, Hendricks AE, Williamson S, Nagle MW, Wilk JB, Massood T, Laramie JM, DeStefano AL, Litvan I, Nicholson G, Corbett A, Isaacson S, Burn DJ, Chinnery PF, Pramstaller PP, Sherman S, Al-hinti J, Drasby E, Nance M, Moller AT, Ostergaard K, Roxburgh R, Snow B, Slevin JT, Cambi F, Gusella JF, Myers RH. Haplotypes and gene expression implicate the MAPT region for Parkinson disease: the GenePH Study. *Neurology* 2008;71(1):28-34.

Torres-Odio S, Key J, Hoepken HH, Canet-Pons J, Valek L, Roller B, Walter M, Morales-Gordo B, Meierhofer D, Harter PN, Mittelbronn M, Tegeder I, Gispert S, Auburger G. Progression of pathology in PINK1-deficient mouse brain from splicing via ubiquitination, ER stress, and mitophagy changes to neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 2017;14:154.

Tsang KL, Ho SL, Lo SK. Estrogen improves motor disability in parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations. *Neurology* 2000;54(12):2292-2298.

Van der Merwe C, Jalali SDZ, Christoffels A, Loos B, Bardien S. Evidence for a common biological pathway linking three Parkinson's disease-causing genes: parkin, PINK1 and DJ-1. *Eur J Neurosci* 2015;41(9):1113-1125.

Varelas X, Samavarchi-Tehrani P, Narimatsu M, Weiss A, Cockburn K, Larsen BG, Rossant J, Wrana JL. 2010. The Crumbs complex couples cell density sensing to Hippo-dependent control of the TGF- β -SMAD pathway. *Dev Cell* 19: 831-844.

Wakabayashi K, Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Mori F, Takahashi H. The Lewy body in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Mol Neurobiol* 2013;47(2):495-508.

Wang D, Gao H, Li Y, Jiang S, Yong Y, Yang X. Genome-Scale Expression Pattern of Long Non-Coding RNAs in Chinese Uyghur Patients with Parkinson's Disease. *Med Sci Monit* 2020;26:e925888.

Wang KC and Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011;43(6):904-914.

Wang K, Liu F, Zhou LY, Long B, Yuan SM, Wang Y, Liu CY, Sun T, Zhang XJ, Li PF. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res* 2014;114(9):1377-1388.

Wang Q, Han CL, Wang KL, Sui YP, Li ZB, Chen N, Fan SY, Shimabukuro M, Wang F. Integrated analysis of exosomal lncRNA and mRNA expression profiles reveals the involvement of lnc-MKRN2-42:1 in the pathogenesis of Parkinson's disease. *CNS Neurosci Ther* 2019;26(5):527-537.

Wang S, Zhang X, Guo Y, Rong H, Liu T. The long noncoding RNA HOTAIR promotes Parkinson's disease by upregulating LRRK2 expression. ***Oncotarget*** 2017;8:24449-24456.

West AB, Moore DJ, Biskup S, Bugayenko A, Smith WW, Ross CA, Dawson VL, Dawson TM. Parkinson's disease-associated mutations in leucine-rich repeat kinase 2 augment kinase activity. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 2005;102(46):16842-16847.

Wilhelmus MM, Nijland PG, Drukarch B, de Vries HE, van Horsen J. Involvement and interplay of Parkin, PINK1, and DJ1 in neurodegenerative and neuroinflammatory disorders. ***Free Radic Biol Med*** 2012;53(4):983-992.

Williams DR, Watt HC, Lees AJ. Predictors of falls and fractures in bradykinetic rigid syndromes: a retrospective study. ***J Neurol Neurosurg Psychiatry*** 2006;77(4):468-473.

Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. ***Eur J Epidemiol*** 2011;26(1):1-58.

Wu R, Su Y, Wu H, Dai Y, Zhao M, Lu Q. Characters, functions and clinical perspectives of long non-coding RNAs. ***Mol Genet Genomics*** 2016;291(3):1013-1033.

Xie SP, Zhou F, Li J, Duan SJ. NEAT1 regulates MPP(+)-induced neuronal injury by targeting miR-124 in neuroblastoma cells. ***Neurosci Lett*** 2019;708:134340.

Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. α -Synuclein and protein degradation systems: A reciprocal relationship. ***Mol Neurobiol*** 2013;47(2):537-551.

Yan W, Chen ZY, Chen JQ, Chen HM. LncRNA NEAT1 promotes autophagy in MPTP-induced Parkinson's disease through stabilizing PINK1 protein. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2018;496(4):1019-1024.

Yang S, Lim KH, Kim SH, Joo JY. Molecular landscape of long noncoding RNAs in brain disorders. ***Molecular Psychiatry*** 2021;26:1060-1074.

Yeniçeri M. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Otizm. ***Sakarya Med J*** 2020;10(1):171-182.
Youle RJ and Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. ***Nat Rev Mol Cell Biol*** 2011;12:9-14.

Yuan J, Yue H, Zhang M, Luo J, Liu L, Wu W, Xiao T, Chen X, Chen X, Zhang D, Xing R, Tong X, Wu N, Zhao J, Lu Y, Guo M, Chen R. Transcriptional profiling analysis and functional prediction of long noncoding RNAs in cancer. ***Oncotarget*** 2016;7(7):8131-8142.

Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez O, Ates B, Llorens V, Tortosa EG, del Ser T, Muñoz DG, de Yebeneset JGal. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. ***Ann Neurol*** 2004;55(2):164-173.

Zhang P, Wu W, Chen Q, Chen M. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. ***J Integr Bioinform*** 2019;16(3):1-12.

Zhang P, Yu L, Gao J, Fu Q, Dai F, Zhao Y, Zheng L, Zhao S. Cloning and characterization of human VPS35 and mouse Vps35 and mapping of VPS35 to human chromosome 16q13-q21. ***Genomics*** 2000;70(2):253-257.

Zhang QS, Wang ZH, Zhang JL, Duan YL, Li GF, Zheng DL: Beta-asarone protects against MPTP-induced Parkinson's disease via regulating long non-coding RNA MALAT1 and inhibiting alpha-synuclein protein expression. ***Biomed Pharmacother*** 2016;83:153-159.

Zhang Y, Liu X, Bai X, Lin Y, Li Z, Fu J, Li M, Zhao T, Yang H, Xu R, Li J, Ju J, Cai B, Xu C, Yang B. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/ miR-223/NLRP3 axis. ***J Pineal Res*** 2018;64(2):e12449.

Zheng J, Yang X, Zhao Q, Tian S, Huang H, Chen Y, Xu Y. Association between gene polymorphism and depression in Parkinson's disease: A case-control study. ***J Neurol Sci*** 2017;375:231-234.

Zhou W, Zhu M, Wilson MA, Petsko GA, Fink AL. The oxidation state of DJ-1 regulates its chaperone activity toward alpha-synuclein. ***J Mol Biol*** 2006;356(4):1036-1048.

Zhou X, Li Y, Wang W, Wang S, Hou J, Zhang A, Lv B, Gao C, Yan Z, Pang D, Lu K, Ahmad NH, Wang L, Zhu L, Zhang L, Zhuang T, Li X. Regulation of Hippo/YAP signaling and Esophageal Squamous Carcinoma progression by an E3 ubiquitin ligase PARK2. ***Theranostics*** 2020;10(21):9443-9457.

Zhou Y, Gu C, Li J, Zhu L, Huang G, Dai J, Huang H. Aberrantly expressed long noncoding RNAs and genes in Parkinson's disease. ***Neuropsychiatr Dis Treat*** 2018;14:3219-3229.

Zimprich A, Benet-Pagès A, Struhal W, Graf E, Eck SH, Offman MN, Haubenberger D, Spielberger S, Schulte EC, Lichtner P, Rossle SC, Klopp N, Wolf E, Seppi K, Pirker W, Presslauer S, Mollenhauer B, Katzenschlager R, Foki T, Hotzy C, Reinthaler E, Harutyunyan A, Kralovics R, Peters A, Zimprich F, Brücke T, Poewe W, Auff E, Trenkwalder C, Rost B, Ransmayr G, Winkelmann J, Meitinger T, Strom TM. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset parkinson disease. ***Am J Hum Genet*** 2011;89:162-167.

