

BÖBREK NAKLİNDE PRE-OP ve POST-OP miRNA EKSPRESYON PROFİLİ

Burçak YOLDAŞ¹, Esra YETİŞGİN², M.Gökhan ERTOSUN¹, Ayhan DİNÇKAN³, Erman GÜMÜŞLÜ⁴

¹AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

²KONYA GIDA ve TARIM ÜNİVERSİTESİ

³İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ

⁴Biyo-Gen Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi

mikroRNA'lar



❖ Proteine translasyonu gerçekleştirmeyen 18-22 nükleotidlik regülatör RNA molekülleri

(1993, Lee et al. 2000, Reinhart et al.)

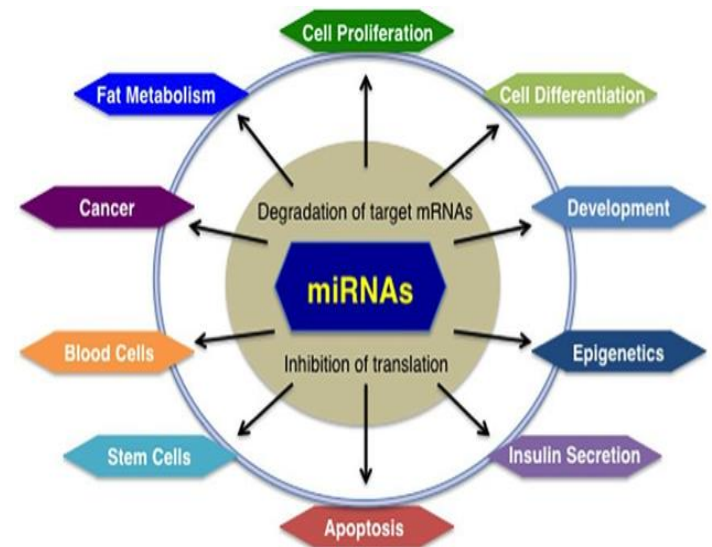
❖ Her biri için spesifik hedef mRNA'lar mevcuttur.

❖ Doku, kan, serum, idrar, tükürük...

❖ **Fizyoloji / Tıp 2006 Nobel Ödülü**

❖ Gen ekspresyon kontrolü

- Hücre döngüsü
- Apoptoz
- Proliferasyon
- Farklılaşma
- İmmün tepki...

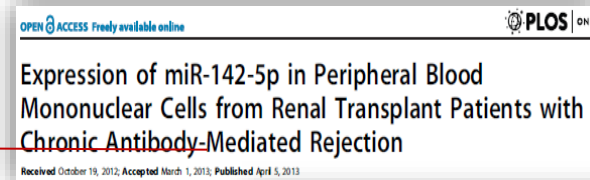
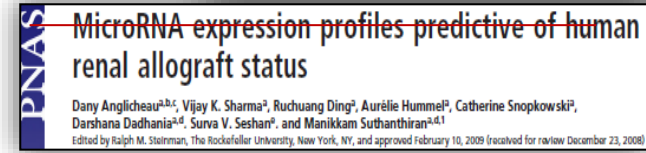


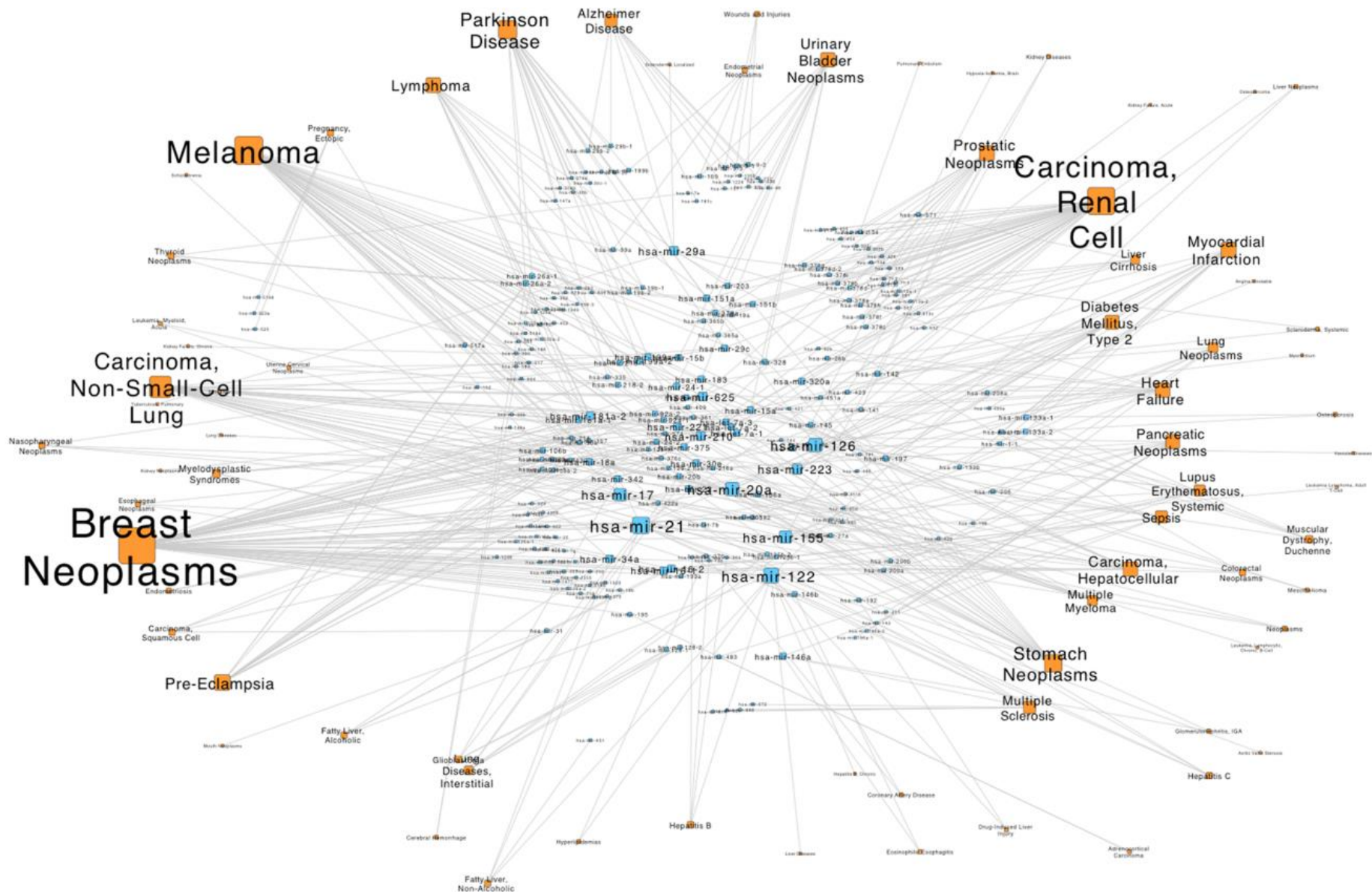
Organ Transplantasyonunda miRNA

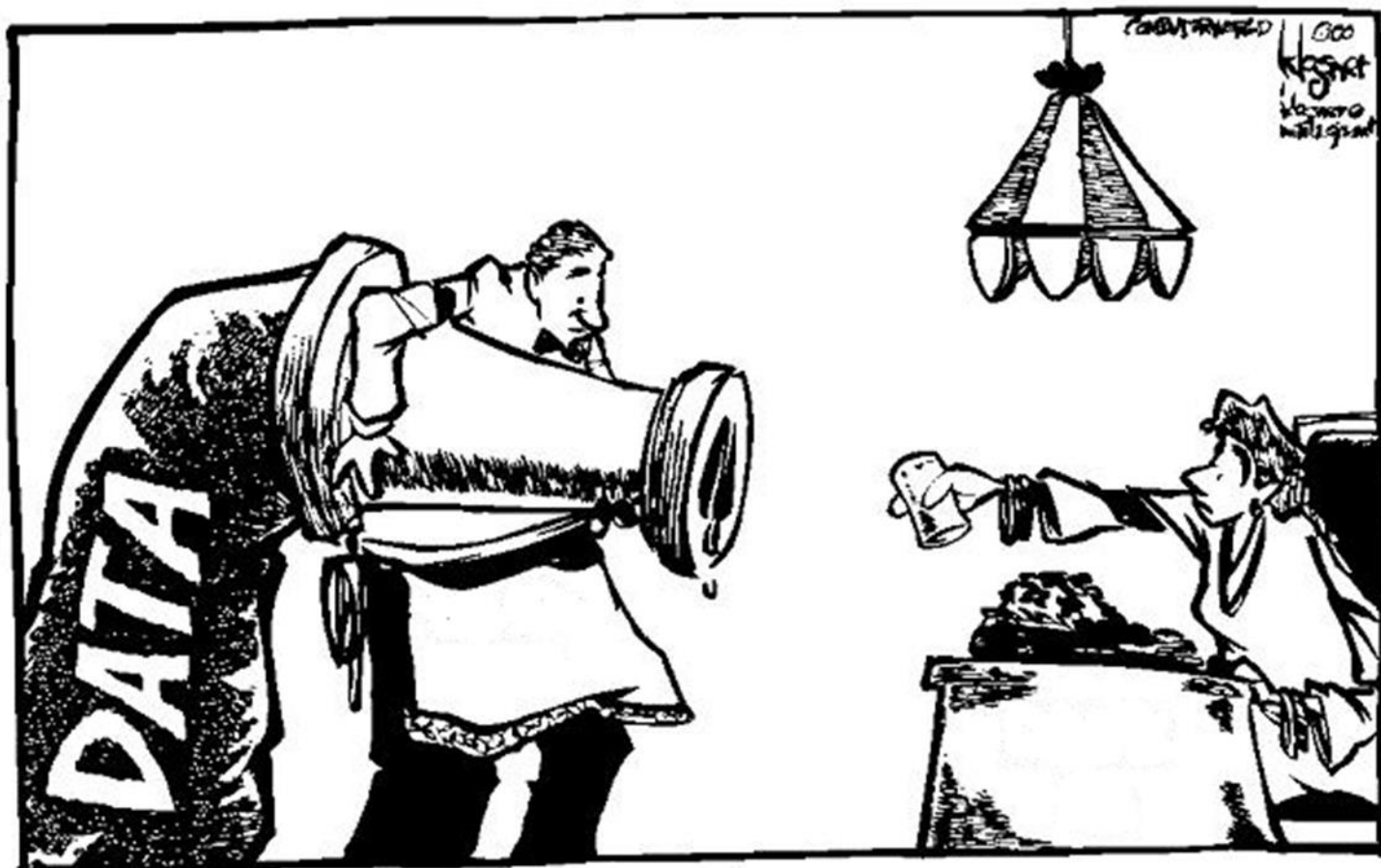
❖ miRNA

- Nakil öncesi ve sonrası moleküler monitörizasyon
- Rejeksiyon/tolerans gelişimi
- Greft akıbeti
- Aday verici ve alıcı seçimi
- İmmunsupresan ilaç etkisi ve seçimi

**** İnvaziv olmayan, spesifik, duyarlı ve düşük maliyetli biyobelirteç adayı!!**







**** Meta-analiz,** aynı konuda farklı yer, zaman ve merkezlerde yapılmış olan araştırma sonuçlarını niteliksel ve niceliksel olarak birleştirmeye yardımcı olan istatistiksel bir yöntemdir.

Benzer klinik ve tıbbi araştırmalara ait verilerin bir araya getirilmesiyle aralarındaki ortaklık ve anlamlılık ilişkisini ortaya koymak.

- **İntegratif meta-analiz** yöntemi biyomoleküller arası interaksiyonun aydınlatılması ve kliniğe yansıyan durumlarını gözeterek irdelenmesini sağlamaktadır.

- ❖ Solid organ nakillerinde ve farklı platformlarda dizayn edilip laboratuvar çalışması ile miRNA ekspresyon profilleri çıkarılmış çalışmaların verilerini bir araya getirmek ve potansiyel hedef ve yolları tanımlayan bir integratif meta-analiz ile organ naklinde biyobelirteç adayı miRNA'ların aralarındaki ortaklık ve anlamlılık ilişkisini ortaya koymak ve bu miRNA'ların hedefi olan genleri, ilişkili olduğu yolları anlamlandırmak
- ❖ Şubat-2021'e kadar ...miRNA, microRNA, miR- ve solid organ transplantation, organ transplantation, transplantation, heart transplantation, lung transplantation, liver transplantation, pancreas transplantation, kidney transplantation, renal transplantation

** Literatür taraması sırasında çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 1- Solid organ nakillerinde miRNA ekspresyon çalışmaları
- 2- Doku, kan, idrar örneklerinde yapılan çalışmalar
- 3- Vaka-kontrol grupları kullanılmış çalışmalar

** Literatür taraması sırasında çalışmadan dışlama kriterleri;

- 1- Derlemeler, toplantı özetleri, olgu raporları, uzman görüşleri, orjinal veri içermeyen gözden geçirmeler ve editöre mektuplar
- 2- Deneysel çalışmalar
- 3- İnsan dışı çalışmalar

- Yapılan literatür araması sonucunda 380 adet yayın seçildi.

- 55 adet çalışma değerlendirmeye dahil edildi.

* 380 adet yayın arasından 325'i araştırmadan dışlanmıştır. Bu çalışmaların 75'i hayvan deneyi, 19'u hücre kültürü, 23'ü kök hücre nakli, 20'si miRNA profillemesi olmayan, 37'si derleme, 13'ü viral miRNA, 18'i diğer (uzman görüşü, editöre mektup ve 120'si (konu dışı!!) şeklindedir.

- Yayınlar yayın yılı, yazarlar, çalışmanın yapıldığı merkez, örnek sayısı, vakaların klinik durumları, nakil organ tipi, çalışılan örnek türü, ilişkilendirildiği diğer klinik durum, deney platformu, miRNA ekspresyon profili artan (up regüle), azalan (down regüle) ve değişmeyen şeklinde p değerleri (<0.05) dikkate alınacak şekilde sınıflandırılarak düzenlendi. Bu bilgiler “.xlsx” uzantılı Microsoft Excel dosyaları haline getirildi.
- Organ tipine göre yapılan sınıflandırma sonrasında her bir organ için tespit edilen miRNA'lar arasından tekrarlı olanlar filtrelendi ve up regüle, down regüle ve değişmeyen miRNA sınıflarına ayrıldı.

Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
J Cell Biochem	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu	Plazma	qRT-PCR	cDNA, 204306		miR-148a-3p	26	27
							miR-148a-3p		
Fohoku J Exp Med	Böbrek	Antikor Aracılı Allogreft Reddi (ABMR)	PKMH	qRT-PCR	cDNA 000439	miR-142-3p	miR-107	19	20
						miR-140-3p	miR-338-5p		
						miR-486-5p	miR-204		
anian J of Kidney Diseases	Böbrek	Kronik allogreft nefropati	PKMH	qRT-PCR	cDNA 002438	miR-21		0	26
J Bras Nefrol	Böbrek	Gecikmiş Graft Fonksiyonu	Biyopsi	qRT-PCR	cDNA 000468	miR-146a-5p		33	13
'LoS One	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi IFTA + ABMR	PKMH	qRT-PCR	cDNA 477916		miR-145-5p	30	53
		T hücre aracılı rejeksiyon (TCMR)					miR-424-3p		
anian J of Kidney Diseases	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi	Plazma	qRT-PCR	cDNA 204230	miR-21		53	27
					cDNA 204291	miR-142-3p			
					cDNA204308	miR-155			
Arch Med Res	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu IFTA	Plazma	qRT-PCR	cDNA 204660	miR-150-5p		53	27
					cDNA 204099	miR-423-3p	miR-192-5p		
					cDNA 206071		miR-200b-3p		
Clin Biochem	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi	İdrar	qRT-PCR	cDNA Primer	miR-21	miR-200b	47	15
					cDNA Primer	miR-142-3p			
Bone	Böbrek	Kronik böbrek hastalığı	Serum	qRT-PCR	cDNA 477983		miR-223-3p	67	36
					cDNA 478210		miR-93-5p		
Br J Clin Pharmacol	Böbrek	Akut rejeksiyon	İdrar	qRT-PCR	MIMAT0000646		miR-210-3p	8	72
					MIMAT0000267	miR-155-5p			
					MIMAT0000433	miR-142-3p			
Int J Mol Med	Böbrek	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MIMAT0003320	miR-650		19	10
iomarkers	Böbrek	Kronik antikor aracılı rejeksiyon	PKMH	qRT-PCR	cDNA 477911	miR-182-5p		28	5
					cDNA 002248	miR-142-5p			
					cDNA 478128	miR-486-5p			
raz J Med Biol Res	Böbrek	Akut tübüler nekroz	İdrar	qRT-PCR	MIMAT0000434	miR-142-3p		18	8
Clin	Böbrek	Kronik böbrek	Serum	qRT-PCR	cDNA 000451		miR-126	38	40

❖ Yapılan disregüle miRNA sınıflandırması sonucunda

- Böbrek için 93 up regüle, 56 down regüle - toplam 149 adet disregüle miRNA
 - Karaciğer için 70 up regüle, 70 down regüle -toplam 140 adet disregüle miRNA
 - Kalp için 22 up regüle, 4 down regüle ve 3'ü değişmeyen - toplam 29 adet disregüle miRNA
 - Akciğer için 16 up regüle, 35 down regüle -toplam 51 adet disregüle miRNA
 - Karaciğer&böbrek kombine nakilde 2 up regüle, 4'ü down regüle
 - Pankreas&böbrek kombine nakilde 1 up regüle. 9 down regüle
- Bütün organlar tekrarlı olanların elenmesi sonrasında birlikte incelendiğinde 182'si up regüle, 164'ü down regüle, 3'ü değişmeyen olmak üzere toplam 349 adet disregüle miRNA belirlenmiştir.

- ❑ Bu listelerde Antikor aracılı rejeksiyon (allogreft reddi), T hücre aracılı rejeksiyon, akut rejeksiyon, akut hücresel rejeksiyon, kronik antikor aracılı rejeksiyon, kronik antikor aracılı rejeksiyon olarak belirtilenler genel mekanizma nedeniyle rejeksiyon olarak tek bir başlık altında toplanmış olup up regüle ve down regüle miRNA sonuçları çıkarıldı.

Up regüle miRNA	miR-142-3p	miR-144-3p	miR-182-5p	miR-142-5p	miR-92a	miR-20a	miR-194
	miR-140-3p	miR-339-3p	miR-142-5p	miR-155	miR-142-3p	miR-let-7e	miR-122
	miR-486-5p	miR-326	miR-486-5p	miR-142-3p	miR-155	miR-146a	miR-10a
	miR-144	miR-122	miR-29	miR-223	miR-590-5p	miR-142-5p	miR-412
	miR-142-5p	miR-133a	miR-17	miR-122	miR-381	miR-301a	miR-610
	miR-155	miR-148a	miR-140-3p	miR-181a	miR-374a	miR-590-5p	miR-373
	miR-142-3p	miR-194	miR-130b	miR-483-5p	miR-28-5p	miR-32	miR-649
	miR-101-3p	miR-155-5p	miR-122	miR-557	miR-126	miR-503	
	miR-424-5p	miR-142-3p	miR-192	miR-21	miR-27b	miR-122	
	miR-27a-3p	miR-650	miR-99a	miR-31	miR-19a	miR-148a	
Down regüle miRNA	miR-338-5p	miR-15b	miR-210	miR-29b-1	miR-210	miR-578b-5p	
	miR-204	miR-103a	miR-221-5p	miR-34a	miR-10b	miR-888	
	miR-424-3p	miR-106a	miR-29b-3p	miR-451	miR-9	miR-10a	
	miR-10a	miR-338-5p	miR-501-3p	miR-519e	miR-135a	miR-451	
	miR-195	miR-10a-5p	miR-7-5p	miR-629	miR-199a-3p		
	miR-133b	miR-148b-3p	miR-769-5p	miR-576-5p	miR-181a-5p		
	miR-210-3p	miR-16-5p	miR-155	miR-125b	miR-186-5p		

miRBase

Home Search Browse Help Download Blog Submit

Latest miRBase blog posts

MicroRNA Gene Ontology annotations
You might have noticed some additional information on the mature miRNA pages in the last few weeks. See for example: http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000123 http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000069 The new section "QuickGO function" contains a set of high quality manual annotations of Gene Ontology terms for mature miRNAs, the vast majority of which come from the work of Rachael Huntley et al. [...]
By sam (June 7, 2018)

miRBase 22 release
After repeated and unreasonable delay, miRBase 22 is finally released. As you might expect with such a long gap, the number of sequences in the database has jumped significantly — by over a third. The vast majority of the increase comes from new microRNA annotations in species not previous represented in the database. Indeed, there [...]
By sam (March 12, 2018)

miRNA count: 38589 entries
[Release 22.1: October 2018](#)

Search by miRNA name or keyword

Download published miRNA data
[Download page](#) | [FTP site](#)

miRBase: the microRNA database

miRBase provides the following services:

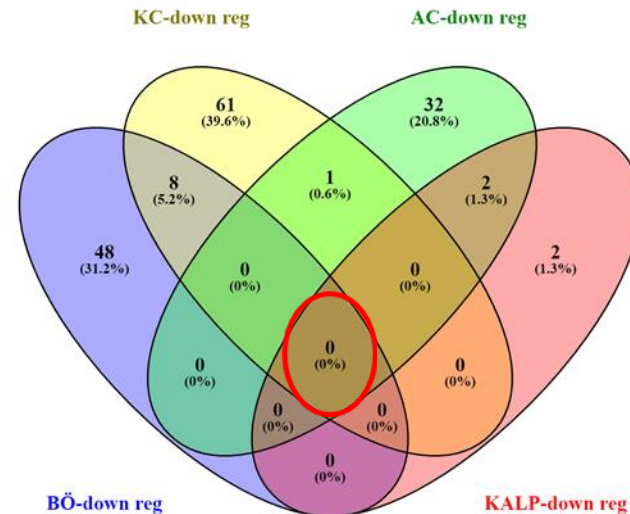
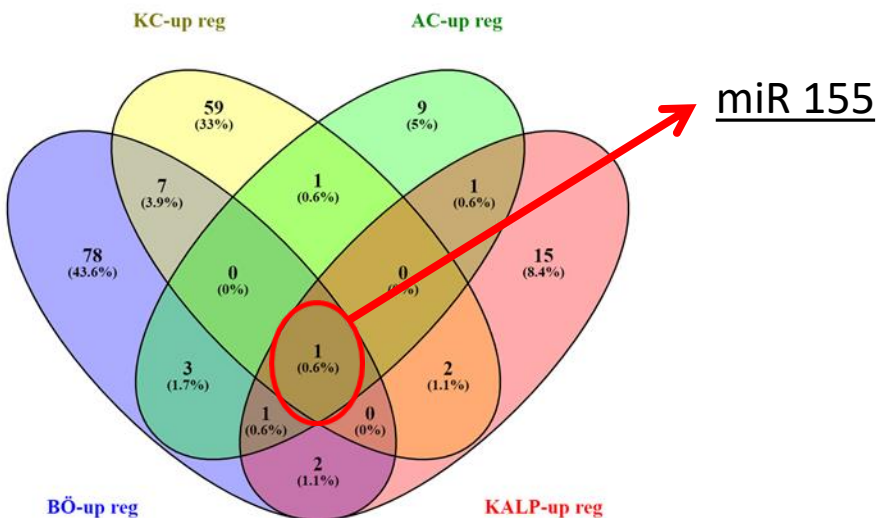
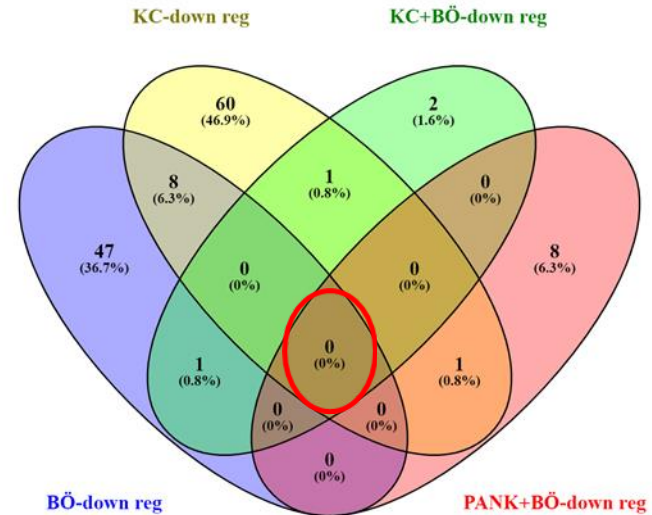
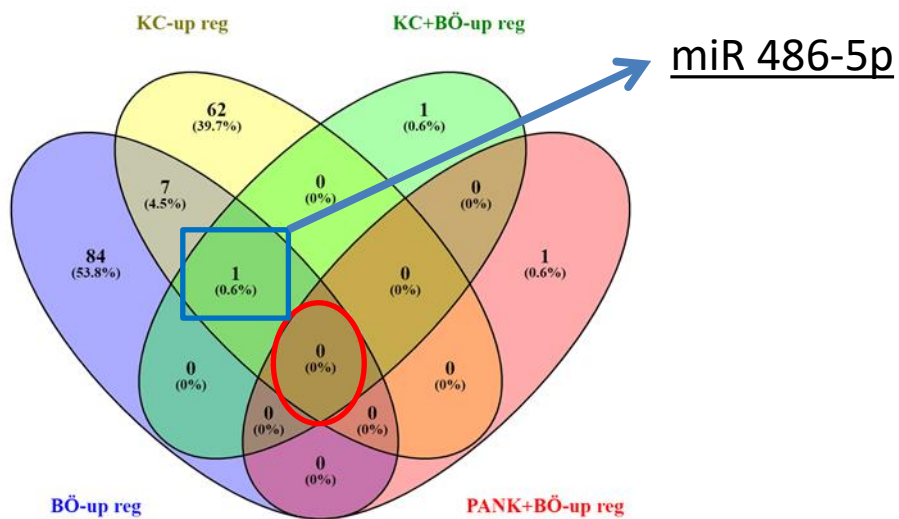
- The [miRBase database](#) is a searchable database of published miRNA sequences and annotation. Each entry in the miRBase Sequence database represents a predicted hairpin portion of a miRNA transcript (termed mir in the database), with information on the location and sequence of the mature miRNA sequence (termed miR). Both hairpin and mature sequences are available for [searching](#) and [browsing](#), and entries can also be retrieved by name, keyword, references and annotation. All sequence and annotation data are also [available for download](#).
- The [miRBase Registry](#) provides miRNA gene hunters with unique names for novel miRNA genes prior to publication of results. Visit the [help pages](#) for more information about the naming service.

To receive email notification of data updates and feature changes please subscribe to the [miRBase announcements mailing list](#). Any queries about the website or naming

<http://mirbase.org> -veritabanı

- ✓ miRNA sekanslarını isimlendirmek ve ulaşılabilirliğine olanak sağlamak
- ✓ yeni keşfedilmiş miRNA'ların deneysel olarak klonlanmasını, ifade ve işlevlerinin kanıtlanmasını gerektirir.
- ✓ 2019'da yayınlanan son sürümü 22.1'e göre 271 farklı organizmada araştırılmış 38589 prekürsör ve 48860 adet olgun miRNA verisi bulunmaktadır
- ✓ miRNA* - Nisan 2011
- ✓ Yeni isimlendirme sisteminde miRNA adlarının sonuna hangi kola (3' veya 5') ait olduğuna göre -3p ve -5p getirilmeye başlanmıştır.

- ❖ ortak hedef miRNA : VENNY diagramı
(<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)



❖ Belirteç Adayı miRNA'ların (meta-miRNA) Hedef Genlerinin Bulunması ve miRNA Hedef Genlerine Yolak Analizlerinin Uygulanması

The screenshot displays the miRWalk website. At the top, there's a red header with the 'miRWalk' logo and a navigation bar with links for HOME, FAQ, RESOURCES, and ABOUT. Below the header, a 'News and Updates' section lists several updates from 2018, including changes to transcript links, a new publication, a new search module for pathway genes, and database updates. To the right, a 'New version of miRWalk' section describes the improved version of the database, highlighting its focus on accuracy, simplicity, and user-friendly design. Below these sections, a 'Search for a single gene or miRNA' section provides instructions on how to search using miRNA names or accession numbers. A search bar is present with fields for 'species' (set to 'human'), 'Gene', 'miRNA', and a 'search' button. Further down, a 'Target Mining' section offers an advanced search option for several miRNAs or gene targets, with buttons for 'miRNAs', 'Genes', and 'Pathways'. At the bottom, a 'Help to improve miRWalk' section invites users to provide feedback or suggestions.

(<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/>)

Öngörülen ve valide edilmiş miRNA hedef etkileşimlerinin kapsamlı bir atlası olarak tanımlanan miRWalk veri tabanı, miRNA'lara özgü hedef genlerin tespit edilebilmesi için geliştirilmiş bir biyoinformatik araçtır. 2018'de 3. sürümü araştırmacıların kullanımına sunulmuştur

- ❖ Ortak hedef gen listeleri yolak analiz araçlarında analiz edilerek biyolojik işlevleri, moleküler fonksiyonları ve bulundukları yollar araştırılmıştır.
- ❖ Yolak analizi için, WebGestalt, (WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit) (<http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/>)
- ❖ KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (<http://www.genome.jp/kegg/>) yolak analiz araçları kullanılmıştır.



WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit

Translating gene lists into biological insights...

ORA Sample Run | GSEA Sample Run | NTA Sample Run | Phosphosite Sample Run (New in 2019!) | External Examples

| Manual | Citation | User Forum | GOView | WebGestaltR | WebGestalt 2017

Basic Parameters

Select Organism of Interest -- Organisms --

Select Method of Interest Overrepresentation Enrichment Analysis (ORA)

Select Functional Database -- Functional Database Class --

-- Functional Database Name --

Gene List

Select Gene ID Type -- Gene ID Type --

Introduction

WebGestalt 2019 has been officially released with updated data. The 2017 version can be accessed through the link.

WebGestalt (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit) is a functional enrichment analysis web tool, which has on average 26,000 unique users from 144 countries and territories per year according to Google Analytics. The WebGestalt 2005, WebGestalt 2013 and WebGestalt 2017 papers have been cited in more than 2,500 scientific papers according to Google Scholar.

WebGestalt 2019 significantly improved the output report with emphasis on providing user-friendly interfaces which could directly translate into publication-ready figures. The R package WebGestaltR has been updated to work with the new version, which provides an interface to integrate into other pipelines or run batch jobs locally. We also support loading data from third-



KEGG

Search

Help

» Japanese

KEGG Home
Release notes
Current statistics
Plea from KEGG

KEGG Database
KEGG overview
Searching KEGG
KEGG mapping
Color codes

KEGG Objects
Pathway maps
Brite hierarchies
KEGG DB links

KEGG Software
KEGG API
KGML

KEGG FTP
Subscription

GenomeNet
DBGET/LinkDB

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

KEGG is a database resource for understanding high-level functions and utilities of the biological system, such as the cell, the organism and the ecosystem, from molecular-level information, especially large-scale molecular datasets generated by genome sequencing and other high-throughput experimental technologies. See Release notes (April 1, 2019) for new and updated features.

Main entry point to the KEGG web service

KEGG2 KEGG Table of Contents [Update notes | Release history]

Data-oriented entry points

KEGG PATHWAY KEGG pathway maps
KEGG BRITE BRITE hierarchies and tables
KEGG MODULE KEGG modules
KEGG ORTHOLOG KO functional orthologs [Annotation]
KEGG GENOME Genomes [Pathogen | Virus | Plant]
KEGG GENES Genes and proteins [SeqData]
KEGG COMPOUND Small molecules
KEGG GLYCAN Glycans
KEGG REACTION Biochemical reactions [RModule]
KEGG ENZYME Enzyme nomenclature
KEGG NETWORK Disease-related network elements

Classification

Pathway
Brite
Brite table
Module
KO (Function)
Organism
Compound
Network
Disease (ICD)
Drug (ATC)
Drug (Target)

- Böbrek, karaciğer ve pank+böbrek nakillerinde ortak up regüle miR-486-5p:
 - immün yanıtın oluşmasında etkili olan özellikle Notch sinyal yolağı, kompleman sistemi, T hücre reseptör sinyal yolağı ve allogreft rejeksiyon yolakları ile ilişkisi ortaya konulmuştur.
 - Böbrek naklinde kronik antikor aracılı rejeksiyonda miR-486-5p'nin ilişkisi gösterilmiştir.
- Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerinde ortak up regüle mir-155: -
 - immünite ilişkili Mapkinaz sinyal yolağı, T hücre reseptör sinyal yolağı, Toll-benzer reseptör sinyal yolağının yanı sıra apoptoz, metabolik yolaklar, adherens junction sinyal yolaklarında düzenleyici rol aldığı ortaya konmuştur.
 - Rejeksiyon ve T - B hücrelerinde sitokin sentezinin miR-155 ilişkisi gösterilmiştir.

❖ SONUÇLAR? X YENİ SORULAR?

- Disregüle miRNA'lar arasından biyobelirteç adayı olarak tespit edilen mir-486-5p ve miR-155'in gen ve yolak analizlerinde organ nakli sonrası immün sistemle olan ilişkisi dikkat çekicidir ve daha geniş grupta çalışmalarda seçilmiş aday molekül olması önerilir.



- Organ tipi ayırt edilmeksizin rejeksiyon ilişkili disregüle miRNA'lar ile hedef genlerinin mikrodizin tabanlı yöntemler kullanılarak deneysel olarak onaylanması (validasyon) hastalarda nakil öncesi ve sonrası ekspresyon profillerinin değerlendirilmesi, greft durumunun anlaşılmasında etkili olabilecek miRNA'ların keşfinde katkı sağlayabilir.

- Projemizde değerlendirilen miRNA ekspresyon profillerinin ortaya konulduğu birbirinden bağımsız olan çalışmalarda, deney tasarımları transplantasyon sonrasında alınan örnekler üzerinden oluşturulmuştur. ** Graft hasarı ve rejeksiyonun oluşumu noktasında hedef miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin, nakil öncesinde mi yoksa sonrasında mı değişiklik gösterdiği sorusunun aydınlatılması, biyobelirteç adayı miRNA'ların eğer var ise aralarındaki farkları ortaya çıkarabilir. **Bu nedenle solid organ nakillerinde yapılacak miRNA profileme çalışmalarında, deney tasarımı oluşturulurken nakil öncesi ve sonrası şeklinde değerlendirilmeye alınmaları önerilmektedir.**



CrossMark

Expression Profile of MicroRNA Biogenesis Components in Renal Transplant Patients

E. Celen^a, M.G. Ertosun^a, H. Kocak^b, A. Dinckan^c, and B. Yoldas^{a,*}

^aDepartment of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey; ^bDepartment of Internal Medicine, Division of Nephrology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey; and ^cDepartment of General Surgery, Faculty of Medicine, İstanbul Yeni Yüzyıl University, İstanbul, Turkey

0041-1345/17

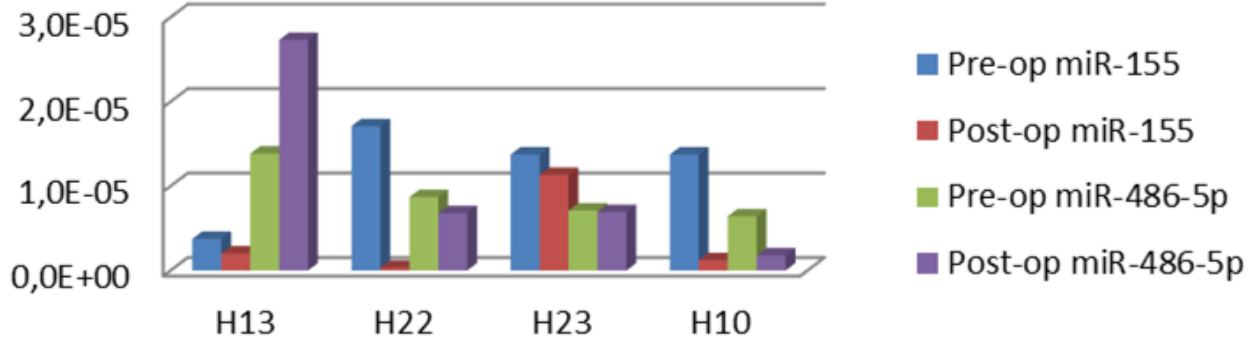
<http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.01.019>

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.
230 Park Avenue, New York, NY 10169

Transplantation Proceedings, 49, 472–476 (2017)

Çalışmaya dahil edilen **16** hastanın nakil öncesinde ve nakilden 3 ay sonrasında alınan periferik kanından elde edilmiş, uygun koşullarda saklanmış ve bu çalışma için kalite kontrolleri yapılmış RNA' larında RT-PCR ile miR-486-5p ve miR-155 ekspresyonu çalışıldı.

Normalize Gen Ekspresyon Profili



Bu 4 hastanın klinik takiplerinde:

- H13 post-op 4.ayda, KR (yüksek kreatinin Greft kaybı → diyaliz)
- H22 de post-op 2. gün ve H23 de post-op 2. ay AR
- H10 graft patolojisi gözlenmemiştir.

ALICI				DONÖR				
Hasta	Yaş	C	Tanı	Yaş	C	Akrabalık Derecesi	Doku Uyumu	İmmünsüpresan Grubu
H2	51	E	T2D, HT	25	K	Kızı	1 A, 1 B, 1 DR	Tac+MFA
H3	35	E	Amiloidozis	34	K	Eşi	1 DR	Tac+MFA
H4	36	E	TIN	55	E	Babası	1 A, 1 B, 1 DR	Tac+MFA
H5	53	E	HT	49	K	Eşi	2 DR	Tac+MFA
H10	30	E	KBY	68	E	Babası	1 A, 1 B, 1 DR	Tac+Eve+MFA
H11	19	E	KBY	64	E	Babası	1 A, 1 B, 1 DR	Tac+Eve+MFA
H12	45	E	Ig A GN, KBY	70	K	Annesi	1 A, 1 B, 2 DR	Tac+MFA
H13	42	K	KBY	31	K	Kardeşi	2 A, 2 B, 2 DR	Tac+MFA
H14	30	E	KBY	28	K	Eşi	1 A, 1B, 1 DR	Tac+MFA
H15	58	E	HT	36	E	Oğlu	1 A, 1B, 1 DR	Tac+MFA
H17	28	K	KBY	59	K	Annesi	1 A, 1B, 1 DR	Tac+MFA
H18	32	K	KBY	50	K	Kuzeni	2 B	Tac+MFA
H19	18	K	SLE	44	E	Babası	1 A, 1B, 1 DR	Tac+MFA
H21	20	E	NM, EB	40	K	Annesi	1 A, 1B, 1 DR	Tac+MFA
H22	24	K	KBY	59	K	Annesi	2 A, 2 B, 2 DR	Tac+MFA
H23	32	E	AN	61	K	LURD	0	Tac+MFA

C, cinsiyet; E, erkek; K, kadın; T2D, tip 2 diyabet; HT, hipertansiyon; TIN, tübüler interstisyel nefrit; KBY, kronik böbrek yetmezliği; Ig A GN, Ig A glomerulonefrit; SLE, sistemik lupus eritematozus; NM, nörojenik mesane; EB, ektopik böbrek; AN, analjezik nefropati; LURD (living-unrelated donor); Tac, tacrolimus; MFA, mikofenolik asit; Eve, Everolimus

miRNA dysregulation in ischaemic stroke: Focus on diagnosis, prognosis, therapeutic and protective biomarkers

Kanika Vasudeva | Anjana Munshi 

Department of Human Genetics and Molecular Medicine, Central University of Punjab, Bathinda, India

Correspondence

Anjana Munshi, Department of Human Genetics and Molecular Medicine, School of Health Sciences, Central University of Punjab, Bathinda 151001, India.
Emails: anjanadurani@yahoo.co.in and anjana.munshi@cup.edu.in

Abstract

Stroke is one of the leading causes of death and disability in both developing and developed countries. Biomarkers for stroke and its outcome can greatly facilitate early detection and management of the disease. miRNAs have been explored for their potential as biomarkers for diagnosis, prognosis and brain injury in ischaemic stroke. A substantial body of evidence suggests that miRNAs play key roles in numerous cellular changes following ischaemic stroke including mitochondrial dysfunction, energy failure, cytokine-mediated cytotoxicity, oxidative stress, activation of glial

possibly bolster their use as biomarkers. Besides the advantages of using miRNA in a clinical setting, there are some challenges too. There is quite a variation in type and levels of miRNAs within the same group of patients which makes the identification of diagnostic cut-offs quite a difficult task. Majority of the studies do not evaluate the impact of other clinical factors which might impact the prognostic threshold. These factors might be helpful in adjusting the value of biomarker. Considering these limitations, more number of studies focussing various aspects of miRNAs implicated in the pathogenesis of stroke are warranted. Finally, majority of these studies have been carried out in small groups of patients. The studies undertaken to establish miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers must be conducted in large number of patients. Since miRNAs target multiple mRNAs and a complex regulation between miRNA network results in a biological outcome therefore, it is important to involve undifferentiated cohort where patients with different thrombotic and vascular diseases, like hypertension, and cardiovascular diseases are also included. This might provide the precise picture of the miRNAs involved in the pathogenesis of the disease. Getting down to the stroke-specific miRNA would benefit in the development of specific therapeutic strategies ameliorating the disease. Further evaluation of polymorphism in miRNA encoding sequences could identify genetic determinants associated with the development of ischaemic stroke. Future studies are required in large cohorts from different ethnic backgrounds to establish these findings and translation of these findings into clinical research.

provide evidence not only on specificity and such treatments but also on potential side ptake/elimination mechanisms. In addition, osomes and microvesicles which can deliver iRNAs at the site of brain injury will open an interesting landscape in stroke therapy. Few studies have been published showing promising results. However, proof-of-concept studies are still required to ascertain whether such therapies can result in improved outcomes of stroke.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

KV drafted the paper. AM designed the study and edited the manuscript.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data sharing is not applicable to this article as no new data were created or analysed in this study.

ORCID

Anjana Munshi  <https://orcid.org/0000-0002-7657-8592>

REFERENCES

- Adams, H. P. Jr, Bendixen, B. H., Kappelle, L. J., Biller, J., Love, B. B., Gordon, D. L., & Marsh, E. 3rd (1993). Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 24(1), 35–41.
- Akhtar, M. M., Micolucci, L., Islam, M. S., Olivieri, F., & Procopio, A. D. (2015). Bioinformatic tools for microRNA dissection. *Nucleic Acids Research*, 44(1), 24–44. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1221>
- Almeida, M. I., Reis, R. M., & Calin, G. A. (2011). MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutation*



Sonuç: miRNA'lar böbrek greftinin akıbeti için potansiyel biyobelirteçler olarak görülmekle birlikte, ekspresyon profilleri pre-op ve post-op olarak değerlendirildiği, hastaların demografik özellikleri dahil örnek alma zamanları, vericiye ait bilgiler bakımından detaylı tespit ve sınıflandırmaların standardize edildiği geniş örneklem sayısına sahip çalışmalarla doğrulanmaya ihtiyaç duymaktadır.

**** Tolerans X Rejeksiyon !!!**

**** Moleküler monitorizasyon (Diagnosis-Prognosis-Treatment)**

-Risk tayini, tanı, tarama, takip, tedavi

**** Non-invaziv materyal**

**** Maliyet (Cost-effective)**

**** Hız**

**** FDA biyobelirteç algoritması**

miRNAs.....

- Böbrek hasarı etiyolojisi
- Etnik köken
- Yaş (pediatrik vakalar!)
- Cinsiyet
- Gebelik sayısı
- Transfüzyon ve diyaliz geçmişi
- Kullandığı ilaçlar
- Yaşam koşulları ve alışkanlıkları
- Donör immun profili
- Donör spesifik miRNA profili (post-op miRNA profiline etkisi?)
- Kan alınma zamanı
- Kontrol grubu paradoksu
- Yöntem



MicroRNA antagonist therapy during normothermic machine perfusion of donor kidneys

Emily R. Thompson^{1,2,3} | Avinash Sewpaul^{1,2,3} | Rodrigo Figueredo^{1,2,3} | Lucy Bates^{1,3} | Samuel J. Tingle^{1,2,3} | John R. Ferdinand^{3,4} | Gerhard R. Situmorang¹ | Shameem S. Ladak¹ | Chloe M. Connelly¹ | Sarah A. Hosgood^{3,5} | Michael L. Nicholson^{3,5} | Menna R. Clatworthy^{3,4} | Simi Ali^{1,3} | Colin H. Wilson^{1,2,3} | Neil S. Sheerin^{1,2,3}

Correspondence

Emily R. Thompson, Honorary Clinical Research Fellow, Translational & Clinical Research Institute, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK.
Email: Emily.Thompson3@ncl.ac.uk

Funding information

Kidney Research UK; National Institute for Health Research (NIHR) Newcastle Biomedical Research Centre; NIHR Blood and Transplant Research Unit in Organ Donation and Transplantation

Normothermic machine perfusion (NMP) is a novel clinical approach to overcome the limitations of traditional hypothermic organ preservation. NMP can be used to assess and recondition organs prior to transplant and is the subject of clinical trials in solid organ transplantation. In addition, NMP provides an opportunity to deliver therapeutic agents directly to the organ, thus avoiding many limitations associated with systemic treatment of the recipient. We report the delivery of oligonucleotide-based therapy to human kidneys during NMP, in this case to target microRNA function (antagomir). An antagomir targeting mir-24-3p localized to the endothelium and proximal tubular epithelium. Endosomal uptake during NMP conditions facilitated antagomir co-localization with proteins involved in the RNA-induced silencing complex (RISC) and demonstrated engagement of the miRNA target. This pattern of uptake was not seen during cold perfusion. Targeting mir-24-3p action increased expression of genes controlled by this microRNA, including heme oxygenase-1 and sphingosine-1-phosphate receptor 1. The expression of genes not under the control of mir-24-3p was unchanged, indicating specificity of the antagomir effect. In summary, this is the first report of ex vivo gymnotic delivery of oligonucleotide to the human kidney and demonstrates that NMP provides the platform to bind and block detrimental microRNAs in donor kidneys prior to transplantation.

KEYWORDS

basic (laboratory) research/science, gene therapy, ischemia reperfusion injury (IRI), kidney transplantation/nephrology, molecular biology: micro RNA, organ perfusion and preservation, translational research/science

Abbreviations: ASO, antisense oligonucleotide; DCD, donation after circulatory death; DGF, delayed graft function; ECD, extended criteria donor; IRI, ischemia reperfusion injury; LNA, locked nucleic acid; MAP, mean arterial pressure; mRNA, messenger RNA; NMP, normothermic machine perfusion; PTEC, proximal tubular epithelial cell; RISC, RNA-induced silencing complex.

Emily R. Thompson and Avinash Sewpaul denotes equal contribution.

© 2022 The American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons

