

Nöral Tüp Defektinde Etkilenen Mekanizmalar, Hastalığın Moleküler Biyolojisi ve Genetiği

The Affecting Mechanisms in Neural Tube Defects; the Molecular Biology and the Genetics of These Malformations: Review

Şefik GÜRAN,^a
Zehra Dilşad ÇOBAN^a

^aTıbbi Biyoloji AD,
GATA, Ankara

Geliş Tarihi/Received: 17.12.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 10.02.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:
Şefik GÜRAN
GATA,
Tıbbi Biyoloji AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
sefguran@yahoo.com

ÖZET Nöral tüp defekti, embriyogenez aşamasında nöralasyonun aksaması ile ortaya çıkan bir klinik tablodur. Nöral tüp defekti sıklığı her 1000 doğumda 1-10 aralığında değişir. Bu kadar sık görülmesine rağmen, etiyolojik faktörler belirgin değildir. Çalışmalar nöral tüp defekti etiyolojisinde çevresel ve genetik faktörlerin sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Folik asit, B12, retinoik asit ve çinkonun erken hamilelik döneminde yetersiz alınması santral sinir sistemi gelişimini bozmakta ve nöral tüp defekti oluşumuna yol açmaktadır. Bu nedenle besinle alınan gıdalar erken dönem embriyogenezde primer ve sekonder nöralasyon aşamalarında önemlidir. “WNT”, “Hedgehog” ve “Notch” gibi bazı hücre içi bilinen yolların bu besin maddeleri tarafından etkilendiği bilinmektedir. Bunun sonucu olarak, tüm bu yolların düzenlenmesini sağlayan genlerin nöral tüp defekti etiyolojisinde rolü olduğu düşünülebilir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar *Hox*, *kaderinler*, metil tetrahidrafolat redüktaz ve *Pax* gibi genlerin nöral tüp defekti etiyolojisindeki rolünü ortaya koymaktadır. Yazımızda, nöral tüp defekti etiyolojisinde etkilenen olası faktörler, yollar ve genler özetlenmiştir. Erken embriyogenez döneminde hücre hareketinde, hücreler arası ilişkide, hücre çoğalmasında ve hücre farklılaşmasında önemli olan genler tartışılmıştır. Aynı zamanda nöral tüp defekti etiyolojisini ortaya koymak için ileride yapılması planlanan deneyler açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nöral tüp defektleri; folik asit; reseptörler, retinoik asit; *kaderinler*; *wnt* proteinleri; epigenezis, genetik

ABSTRACT Neural tube defect is a clinical malformation that caused by the interruption of the neuralation during the embryogenesis. The incidence of this malformation is 1/10 per 1000 birth. Despite of the high frequency, the etiologic factors are unclear. The experimental studies revealed that the genetic and environmental factors are responsible for the neural tube defect. The insufficiency of folic acid, B12, retinoic acid and zinc had been reported as the causes of the neural tube defect in central nervous system development in early time of pregnancy. So, the nutriments obtained in daily diet are important for the primary and secondary neurulation phases in early embryogenesis. Some known intracellular pathways such as “WNT”, “Hedgehog” and “Notch” are affected by these nutriments. So, all the genes regulate these pathways may have a role in neural tube defect etiology. Animal model experiments revealed the roles of *Hox*, *cadherins*, metil tetrahidrafolat redüktaz and *Pax* genes in the etiology of neural tube defect. In this manuscript, the possible roles of the affected factors, pathways and genes had been summarized in neural tube defect etiology. The genes important for the cell migration, cell to cell interaction, cell proliferation and cell diferantiation in the early embryogenesis phase had been discussed. Also, the further experiments planned for the future had been mentioned for understanding the neural tube defect etiology.

Key Words: Neural tube defects; folic acid; receptors, retinoic acid; *cadherins*; *wnt* proteins; epigenesis, genetic

Nöral tüp defekti (NTD), nöral tübün uygun olarak gelişmemesine bağlı ortaya çıkan klinik tablodur. Tüm doğumsal anomaliler arasında ikinci sıklıkla görülür. Spina bifidadan anensefaliye kadar giden farklı bulgularla karşımıza çıkar. Anensefaliye kadar tümden veya parsiyel olarak serebral hemisfer ve kraniumun yokluğu vardır. Spina bifida ve meningo-miyelosele ise vertebral bölgede nöral tübün uygun kapanmaması ile karakterizedir. Tanımlanan olgularda klinik bulgular problemin büyüklüğü ve lokalizasyonuna göre değişir.^{1,2}

Dünyada NTD oranı her 1.000 doğumda 1.0 ile 10.0 arasındadır. Bu denli sık görülmesine rağmen hastalık etiyojisi halen tam olarak bilinmemektedir. Çalışmalarda genetik ve çevresel faktörler ön plana çıkmaktadır.³ Hastalığın oluşumundan folik asit, glukoz, retinoik asit ve apoptoz mekanizmalarının sorumlu olabileceği yönünde yayınlar vardır. NTD ile ilgili hücre farklılaşması, hücre-hücre arası bağlantı, hücre çoğalması ve hücre göçü ile ilgili genler üzerine olan çalışmalar ön plandadır. Nöral tüp defekti oluşmasında gen-gen ve çevre etkileşmesinin önemli olduğu üzerinde durulmaktadır. Tüm bu çalışmalara karşın halen etiyojisi tümü ile açıklanamamış değildir.⁴

NÖRAL TÜP GELİŞİMİ

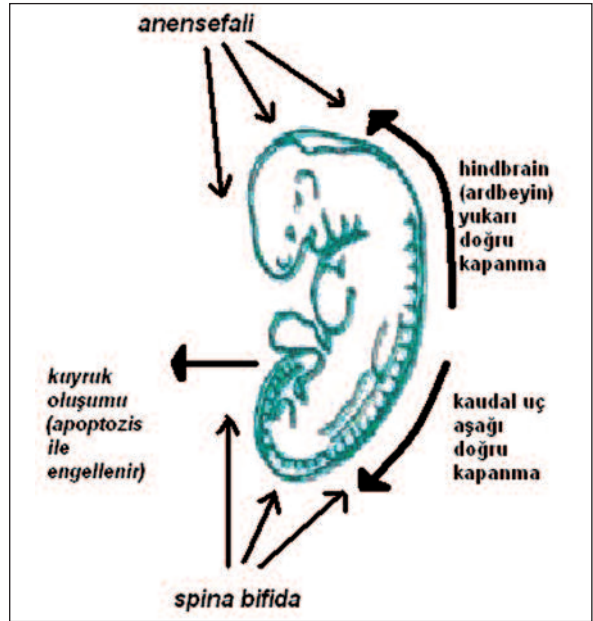
Nöral tüp oluşumunda ilk basamak notokord oluşumudur. Öncelikle primitif çizgi, embriyonik diskin orta bölümündeki epiblast hücrelerinin çoğalması ve göçü sonrasında oluşur. Çizginin kaudal ucuna hücre eklenmesi ile boyu uzar. Kranial uçtaki hücreler de çoğalarak primitif düğüm denilen kabarıntıyı oluşturur. Primitif çizginin orta bölümünde primitif oluk ve primitif çukur oluşur. Primitif çukurdan baş yönünde ilerleyen bazı mezencefal hücreler, notokordal uzantı denilen orta hatta ilerleyen hücreler bir kordon oluşur. Daha sonra bu uzantının ortasında notokordal kanal adı verilen lümen ortaya çıkar. Notokordal uzantı endoderm ve ektoderm arasında ilerleyerek prekor-dial plağa ulaşınca kadar büyür.⁵

Nöral tüp gelişiminin en önemli aşığıdır ve embriyonal gelişimin önemli bir parçasıdır. Notokord baş yönünde büyürken çeşitli genlerin uyarısı ile ektodermi indükler, nöral plak,

nöral oluk ve nöral katlantıları oluşturur. Bunlar da birleşerek beyin ve spinal kord oluşturacak nöral tübü ortaya çıkarırlar.⁵ Nöral plak dorsal yüzey ektoderminin kalınlaşmış orta hatta katlanması ile devam eder. Yüzey ektodermi epidermise dönüşür. Memelilerde füzyon yukarıya (hindbrain-ardbeyin) ve aşağıya (spinal bölge) doğru olur ve bu katlanma sonucunda primer nöral tüp tamamlanır. Alt sakral ve kaudal bölgelerde spinal kordun kapanması ile sekonder nöral tüp oluşur. Kaudal uçta olan tomurcuklanmada farklı yapıda bir multipotansiyel hücre subpopülasyonu ortaya çıkar ve lateral sklerotomal hücrelerin etrafında sakral ve koksigeal vertebra oluşumu için organize olur (Şekil 1). Bu evrede kaudal bölgedeki multipotansiyel hücreler apoptoz ile dejenerasyona giderek insanda kuyruk oluşumu engeller. Nöral tüp gelişimi tüm memeliler için benzer mekanizma ile olmaktadır. Evrimde korunan bu olayda bu nedenle farklı canlılarda etkilenen yollar ve etkilenen genlerin ortak olduğu düşünülmektedir.⁴

NÖRAL TÜP GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN ÇEVRESEL FAKTÖRLER

Günümüzde NTD'de profilaktik olarak folik asit önerilmektedir.⁶ Bu nedenle folik asit eksikliğinin



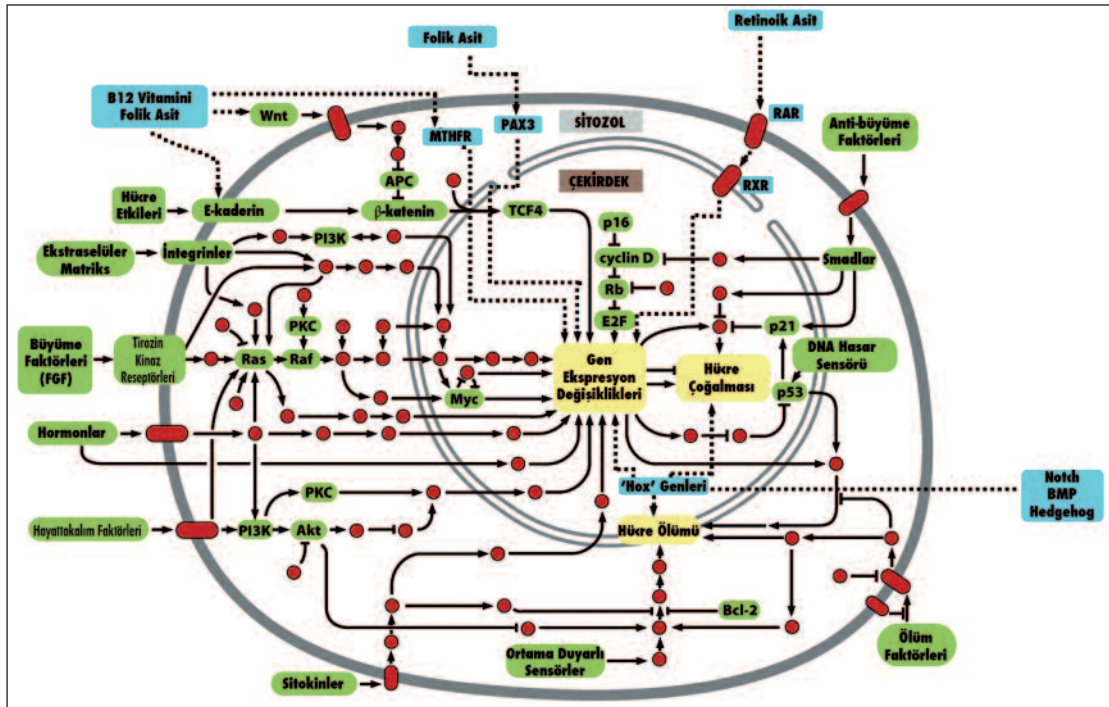
ŞEKİL 1: İnsan embriyosunda nöral tüp oluşumunun esasları.^{3,4,6} (Renkli hali için Bkz. <http://pediatri.turkiyeklinikleri.com/>)

nöral tüp defekti oluşumunda etkin olduğu söylenebilir. Folat antagonistleri (Karbamazepine, trimetoprim gibi) kullanımında, kontrolsüz diabetes mellitus'ta, obez hamilelerde, histon deasetilaz inhibitörü olarak valproik asit kullananlarda, B12 vitamini ve çinko alımı azlığı olanlarda, hamilelikte ateşli hastalık geçirenlerde (hipertermi) NTD görülme sıklığı artmaktadır.⁴

“Curly tail (Ct)” fareler NTD oluşumuna yatkınlığı olduğu bilinen farelerdir. Bu nedenle NTD çalışmalarında örnek model olarak kullanılmaktadır.⁷ Bu fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda A vitamininin nöral tüp oluşumu için önemli olduğu ortaya konmuştur. A vitamini ve onun metabolitleri hücrede A vitaminine özgün hücre yüzey reseptörlerine (RAR) ve hücre nükleus reseptörlerine (RXR) etki ederek fonksiyon gösterir. Her iki reseptör aktive olunca nöral tüp oluşumunda rolü olan genlerin aktive olduğu düşünülmektedir NTD oluşan bireylerde RAR reseptörlerinde problemler tanımlanabilmektedir (Şekil 2).⁸

NTD oluşmasını önlemek amacı ile NTD oluşumuna yatkın olduğu düşünülen hamilelerde folik asit profilaktik olarak verilmektedir. Folik asidin etki mekanizması tam olarak ortaya konmamış olsa da hamilelerde NTD oluşumunu azalttığı kabul edilmektedir.⁶ Folat reseptörlerine ait otoantibodylerin NTD oluşturduğu yönünde yayınlar vardır.⁹ Ancak son yıllarda bu tür otoantibody gözlenmeden NTD oluştuğu gösterilen olgular yayınlanmıştır (Şekil 2).¹⁰

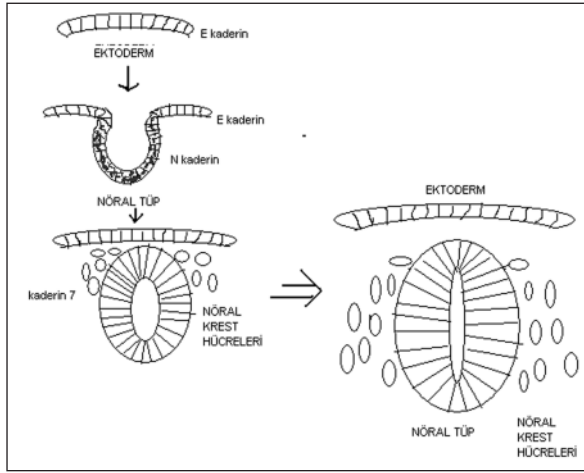
Folik asit antagonisti karbamazepine ile NTD oluşumu aktive olmaktadır. Histon deasetilaz inhibitörü olan valproik asit de NTD oluşumunda etkilidir. Antikonvülviz tedavide ilaç olarak kullanılan valproik asit aşırı dozda kullanıldığında insanda spina bifida riskini 5 kat arttırmaktadır.¹¹ Kaderin farklı alt grupları ile nöral tübün oluşumunda etkin rol almaktadır. N-kaderin eksprese eden hücreler nöral tübü oluştururken, E-kaderin eksprese eden hücreler nöral tübün kapanmasını sağlayan epidermisi oluşturur (Şekil 3).¹² NTD'de etkili olduğu bu-



ŞEKİL 2: Hücre içi sinyal iletiminde NTD'yi etkileyen faktörler ve hücre içi etki mekanizmaları.^{1,3,12,16}

FGF: Fibroblast büyüme faktörü; Hox genleri: Housekeeping genleri; RAR: Retinoik asit hücre yüzey reseptörü; RXR: Retinoik asit hücre çekirdek reseptörü; BMP: Bone morphogenetic protein; MTHFR: Metil tetrahidrofolat redüktaz.

(Renkli hali için Bkz. <http://pediatri.turkiyeklinikleri.com/>)



ŞEKİL 3: Nöral tüp oluşumunda N-kaderin ve E-kaderinin rolü.^{7,8,11}

lunan valproik asidin N-kaderin üzerinden NTD oluşumuna yol açtığı ileri sürülmektedir.¹¹

NTD GELİŞİMİNDE ROLÜ OLAN GENLER VE EPIJENETİK MEKANİZMALAR

NTD'de etkilendiği düşünülen yollara ait birçok çalışma yayınlanmıştır. Bu yollarda etkili olduğu düşünülen 200'e yakın gende moleküler çalışmalar yapılmış, etki mekanizmaları ortaya konmaya çalışılmıştır.⁴ Ancak elde edilen bulgulara rağmen tüm NTD olgularında etiyojijiyi açıklayabilecek bir genetik bozukluk ortaya konamamıştır.³

“*Hox*” gen ailesi NTD etiyojijisinde önemlidir. “*Hox*” gen ailesinin embriyonal dönemde vücut segmentasyonunda, organ ve dokuların uygun lokalizasyonda oluşmasında rolü vardır. “*Hox*” genleri, embriyonal dönemde farklı evrelerde ard arda aktive olan genler topluluğudur.¹³ Evrimde korunduğu için farklı türlerde benzer fonksiyonlar gösterirler. Nöral tübün oluşumunda nörolasyon aşamasında etkili “*Hox*” genleri santral sinir sistemi (SSS)'nde pozisyonel kimliklerin; ardebeyin ve spinal kordun oluşmasında önemlidir.¹⁴ “*Hox*” genleri retinoidlerin (A vitamini metabolitlerinin) sinyalleri ile aktive olur.¹⁵ Uygun zamanda ve uygun miktarda retinoik asit uyarısı “*Hox*” genlerin aktivasyonu ile SSS oluşumunu sağlar ve bu oluşumda ilk basamak olan rombomerleri oluşturur, onların farklı yapılanmalara dönüşümünü sağlar (Şekil 2).¹⁶

“*Hox*” gen aktivasyonunda retinoidler kadar fibroblast büyüme faktörleri de önemli rol oynar. “*Hox*” genleri retinoik asitler ile SSS'nin kaudal uç oluşumunu, fibroblast büyüme faktörleri ile ardebeyin oluşumunu yönlendirirler.¹³

NTD ile ilgili folik asit metabolizmasında homosisteinin metilasyonunda yer alan *metil tetrahidrafolat redüktaz (MTHFR)* genine ait C677T-A1298C nokta mutasyonu önemlidir. Birçok NTD li çocuğa sahip olguda bu mutasyon tanımlanmıştır.¹⁷

“*Pax*”, gen ailesinin fetal gelişimde kritik role sahip olduğu bilinen bir gerçektir. Farelerde genetik predispozisyon-yatkınlık varsa folat eksikliğinde NTD benzeri klinik tablo oluşmaktadır. “*Pax 3*” geni mutant farelerde folik asit eksikliğinde NTD benzeri tablo geliştiği gösterilmiştir. Elde edilen bulgu farelerde NTD gelişiminde “*Pax 3*” gen mutasyonunun genetik yatkınlık oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 2).¹⁸

Embriyonal dönemde hücre iskeleti proteinleri, erken dönemde nöral tübün kapanmasını engelleyen hücre çoğalması ve nörogenezis ile ilgili proteinler kranial kapanmayı sağlar. Ayrıca SSS'de hücre canlılığının devamını sağlayan proteinlerin, yine SSS'de hücre yüzey ekstrasellüler matriks ilişkisini sağlayan yapıların NTD oluşumu ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁴ Bu yollarda yer alan tüm proteinlere ait gen bölgeleri NTD gelişiminden sorumlu tutulup incelenmelidir.

Nörogeneze özgün sinyal yollarında oluşabilecek genetik değişiklikler de NTD oluşumunda etkilidir. Hücre içinde sinyal oluşumunda etkin “Hedgehog”, “Notch”, “bone morphogenetic proteins (BMP)” ve “planar cell polarity (PCP)” sinyal yolları doğrudan NTD etiyojijisi ile ilişkili bulunmaktadır.⁴ “PCP” sinyalleri “*Wnt*” gen ailesinin aktive olması ile düzenlenir. Bu yolak aktive olunca hücre çoğalır ve farklılanır. Ayrıca bu yolak hücre devamlılığı, apoptozis ve hücre hareketlerinde etkin rol alır. “*Wnt*” ve “*BMP*” yolları vertebraları oluşturacak somitlerin segmental olarak gelişmesini sağlar (Şekil 2).^{1,3}

Kaderin protein ailesindeki değişimler hücre farklılaşmasında etkin rol oynar. Nöral tüp gelişimi

sırasında da E-kaderin salgılayan hücreler nöral tüp üzerini kapatacak olan epidermisi oluştururken, N-kaderin salgılayan hücreler nöral tüp oluşumunu sağlar; kaderin 7 etkisiyle bazı hücreler de nöral krista hücrelerine farklılaşırlar (Şekil 2). Rombo-merlerin farklılaşmasında büyük bir olasılıkla mig-rasyonu aktive eden faktörlerin nöral krista hücrelerinin migrasyonunda önemli olduğu düşü-nülmektedir. NTD'de önemli rolü olan nöral krista hücrelerinin migrasyonunun kaderin gen ekspres-yonunda önemli olduğu üzerinde durulmaktadır.¹⁹ "Wnt" sinyalleri ilginç bir şekilde 90-120 dakika-lık periyotlarla "Notch" hedef genlerini aktive ede-rek vertebra segmentasyonu oluşumunu sağlar. SSS oluşumunda önemli olan somitogenezde rolü olan E-kaderin komplekslerinin bir alt grubu olan ve hücre membranı içinde yer alan B-katenin vertebra segmentasyon zamanlamasını kontrol eder. Burada "Wnt" yolağının etkisi önemlidir. Bu aşamaların herhangi birinde rol alan problemler NTD'ye neden olabilir (Şekil 2).²⁰

Endotel hücre proliferasyonu ve damarlanma (vaskülarizasyon) ile ilgili son yapılan çalışmalar, bu iki oluşumun birbiri ile çok yakın ilişkili oldu-ğunu ortaya koymaktadır. Bilindiği gibi NTD'de endotel hücre proliferasyonu ile ilgili problem vardır. Çalışmalarda retinoik asit ve dönüştürücü büyüme faktörü beta-1'in endotelial proliferas-yon inhibisyonu için gerekli olduğu ortaya ko-nulmuştur. Bu faktörler damar oluşumu için önemli olan vasküler endotelial büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü ile bağlantı halinde işlev görmektedir.²¹ Retinoik asit eksikliği belki de bu mekanizma ile NTD oluşumuna neden ol-maktadır.

NTD oluşumunda sadece genetik mekanizma-lar değil epigenetik faktörler de etkindir. Epigene-

tik faktörler içinde en önemlisi olan metilasyon ancak folat içeren koenzimlerin varlığında genom DNA'sında oluşur. Bu nedenle hamilelik dö-ne-minde ortaya çıkan folik asit eksikliğinin bazı gen-lerde hipometilasyona neden olarak NTD oluşturabileceğini ileri süren yayınlar vardır.²²

miRNA'lar hücrede gen kontrolünde önemli-dir. Çalışmalar NTD'de önemli olan folik asit eksik-liğinin ve DNA hipometilasyonunun miRNA'ların doğrudan sentezi yönünde probleme yol açtığını ortaya koymaktadır. Uygun miRNA yapılamama-sının NTD oluşumuna yol açtığı ileri sürülmekte-dir.¹ TD'de etkin olduğu rapor edilen teratojenler üzerine yapılan çalışmalar, bu maddelerin doğru-dan miRNA oluşumunu etkilediğini ortaya koy-maktadır.²³ Tüm bu bulgular folik asit eksikliği ile bunun neden olduğu epigenetik değişiklikler, bun-ları etkileyen teratojenik faktörlerin miRNA'lar üzerinden NTD oluşumunu etkilediklerini göster-mektedir. Bu yolla NTD'de etkin bazı genlerin eks-presyonuna ait bozuklukların ortaya konması NTD etiyojisini açıklayabilecektir.

Sonuçta, NTD oluşturan mekanizmaların çok çeşitli metabolik yollarla ortaya çıktığı bir gerçektir. NTD oluşumunda genetik olduğu kadar çevre-sel faktörlerin de önemli olduğu bilinmektedir. Günümüzde uygulama alanına giren yeni teknolo-jiler ile birçok gen veya gen ürünü aynı anda ince-lenebilmektedir. NTD'nin birçok faktöre bağlı, farklı yollarda farklı genlerin etkilendiği bir tablo olduğu göz önüne alınırsa etiyojisini ortaya koyacak faktörlerin bulunmasında bu teknolojilerin kullanılması gereklidir. Bu yolla elde edilecek yeni bilgiler ile NTD daha iyi anlaşılacak ve oluşması-nın engellenmesinde yeni tedavi protokolleri ge-liştirilebilecektir.^{13,16,24}

KAYNAKLAR

1. Shookhoff JM, Gallicano GI. A new perspective on neural tube defects: folic acid and microRNA misexpression. *Genesis* 2010;48(5):282-94.
2. Sabancıoğulları V, Erdil FH, Çimen M. [Radiological investigation of the lumbosacral region anomalies in patients with abdominopelvic complaints]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2010;30(3):900-5.
3. Au KS, Ashley-Koch A, Northrup H. Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. *Dev Disabil Res Rev* 2010;16(1):6-15.
4. Copp AJ, Greene ND. Genetics and development of neural tube defects. *J Pathol* 2010;220(2):217-30.
5. Deraut ER, George TM, Etchevers HC, Gilbert JR, Vekemans M, Speer MC. Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics. *Neurotoxicol Teratol* 2005;27(3):515-24.
6. Blencowe H, Cousens S, Modell B, Lawn J. Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *Int J Epidemiol* 2010;39(Suppl 1):i110-21.
7. Selçuki M, Manning S, Bernfield M. The curly tail mouse model of human neural tube defects demonstrates normal spinal cord differentiation at the level of the meningocele: implications for fetal surgery. *Childs Nerv Syst* 2001;17(1-2):19-23.
8. Lloret-Vilaspa F, Jansen HJ, de Roos K, Chandraratna RA, Zile MH, Stern CD, et al. Retinoid signalling is required for information transfer from mesoderm to neuroectoderm during gastrulation. *Int J Dev Biol* 2010;54(4):599-608.
9. Rothenberg SP, da Costa MP, Sequeira JM, Cracco J, Roberts JL, Weedon J, et al. Autoantibodies against folate receptors in women with a pregnancy complicated by a neural-tube defect. *N Engl J Med* 2004;350(2):134-42.
10. Molloy AM, Quadros EV, Sequeira JM, Troendle JF, Scott JM, Kirke PN, et al. Lack of association between folate-receptor autoantibodies and neural-tube defects. *N Engl J Med* 2009;361(2):152-60.
11. Briner W, Papadopoulos FC. Valproate enhances N-cadherin production in *Xenopus* embryos. *Neurotoxicol Teratol* 2000;22(5):761-4.
12. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Cadherins in cell-cell adhesions. Molecular Biology of the Cell.* 5th ed. London: Garland Science 2008. p.1141-2.
13. Bel-Vialar S, Itasaki N, Krumlauf R. Initiating Hox gene expression: in the early chick neural tube differential sensitivity to FGF and RA signaling subdivides the HoxB genes in two distinct groups. *Development* 2002;129(22):5103-15.
14. Deutsch JS. Homeosis and beyond. What is the function of the Hox genes? *Adv Exp Med Biol* 2010;689:155-65.
15. Lengerke C, McKinney-Freeman S, Naveiras O, Yates F, Wang Y, Bansal D. The cdx-hox pathway in hematopoietic stem cell formation from embryonic stem cells. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1106:197-208.
16. Marshall H, Morrison A, Studer M, Pöpperl H, Krumlauf R. Retinoids and Hox genes. *FASEB J* 1996;10(9):969-78.
17. Boyles AL, Hammock P, Speer MC. Candidate gene analysis in human neural tube defects. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005;135C(1):9-23.
18. Burren KA, Savery D, Massa V, Kok RM, Scott JM, Blom HJ, et al. Gene-environment interactions in the causation of neural tube defects: folate deficiency increases susceptibility conferred by loss of Pax3 function. *Hum Mol Genet* 2008;17(23):3675-85.
19. Derycke LD, Bracke ME. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling. *Int J Dev Biol* 2004;48(5-6):463-76.
20. Willert K, Jones KA. Wnt signaling: is the party in the nucleus? *Genes Dev* 2006;20(11):1394-404.
21. Bohnsack BL, Hirschi KK. Red light, green light: signals that control endothelial cell proliferation during embryonic vascular development. *Cell Cycle* 2004;3(12):1506-11.
22. Rampersaud GC, Kauwell GP, Hutson AD, Cerda JJ, Bailey LB. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2000;72(4):998-1003.
23. Sathyan P, Golden HB, Miranda RC. Competing interactions between micro-RNAs determine neural progenitor survival and proliferation after ethanol exposure: evidence from an ex vivo model of the fetal cerebral cortical neuroepithelium. *J Neurosci* 2007;27(32):8546-57.
24. Güran S, Yurdakul H. [Cancer diagnosis from circulating nucleic acids: Review]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(2):488-91.