

Beyaz Önlük Hipertansiyonu ve Esansiyel Hipertansiyonda MiR-125a ve MiR-155 Düzeylerinin Araştırılması

Hakan Yavuzer*, Chayar Ali**, Aylia Yeşilova***, Mahir Cengiz**, Serap Yavuzer**, Adnan Levent Yaldıran**

*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul

**İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

***Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul

ÖZ

Amaç: Beyaz önlük hipertansiyonu (BÖH) yüksek kardiyovasküler risk faktörü olup, hastalığın nedeni ve patofizyolojisi iyi bilinmemektedir. Çalışmamızın birinci amacı, hipertansiyon ile epigenetik ve moleküler ilişkisi daha önce gösterilmiş mikroRNA'lardan miR-125a ve miR-155'in plazma ekspresyon seviyelerini BÖH, hipertansiyon ve normotansif hasta gruplarında araştırmak ve karşılaştırmaktır. Çalışmamızın ikinci amacı, bu mikroRNA seviyelerinin klinik ve ambulatuvar kan basıncı ölçümleri ile ilişkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Seçilmiş iki mikroRNA miR-125a ve miR-155 seviyesi 30 hipertansif ve 30 BÖH'ü hastalar ile 30 normotansif sağlıklı kontrolde çalışıldı. miR-125a ve miR-155'in ekspresyon düzeyleri kantitatif qRT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) ile analiz edildi.

Bulgular: Çalışmaya alınan gruplar arasında, miR-125a ve miR-155 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı. Tüm gruplar içerisinde miR-125a ile miR-155 ($r=0,861$, $p<0,001$) arasında anlamlı pozitif yönde korelasyon saptandı. miR-125a ve miR-155 ile klinik, laboratuvar ve kan basıncı ölçümleri arasında ilişki görülmedi. miR-155 ile bel çevresi arasında anlamlı olarak ters yönde korelasyon saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada, hipertansiyon ve BÖH'ün etiyopatogenezine epigenetik yönden araştırmayı amaçladık. Hipertansiyon ve BÖH hastalarının mikroRNA ekspresyon düzeylerinin literatür verileri ile uyumlu olarak tutarlı olduğu ve aynı yönde değişim gösterdiği görülmüştür. Ancak, olgu sayısının az olması nedeni ile istatistiksel anlamlı bir ilişki saptamadık. Bu sonuçların ışığında, gelecekte mikroRNA'ların hipertansiyon ve BÖH'ü hastaların tanı, tedavi ve takiplerine önemli katkılar sağlayabileceğini ve klinik kullanıma girebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: beyaz önlük hipertansiyonu, miR-125a, miR-155

ABSTRACT

The Investigation of MiR-125a and MiR-155 Levels in White Coat Hypertension and Essential Hypertension

Objective: White coat hypertension (WCH) is a high cardiovascular risk condition and a fundamental understanding of the cause and pathophysiology of the disorder is still lacking. Recent studies demonstrated that microRNAs (miRNAs) are involved in hypertension. However, the roles of miRNAs in WCH are not known. The first aim of this study was to investigate the levels of miR-125a and miR-155 plasma expression levels in the WCH, hypertension (HT) and normotensive (NT) groups and compare the levels between the groups. The second aim was to evaluate the relationships between these miRNA levels and the measurements of clinical and ambulatory blood pressures.

Material and Methods: The expressions of miR-125a and miR-155 were validated independently in plasma samples from 30 HT patients, 30 WCH and 30 NT healthy subjects. The expression levels were analyzed by quantitative reverse transcription-PCR.

Results: There was not found any significant difference in terms of expression levels of miR-125a and miR-155 between all the groups. miR-125a levels were significantly positively correlated with miR-155 levels in all groups ($r=0,861$, $p<0,001$). No significant differences were observed between the levels of miR-125a and laboratory findings, clinical and ambulatory blood pressure measurements. The levels of miR-155 were only significantly negatively correlated with the measurements of waist circumference.

Conclusion: Our results were correlated with the literature, however we could not determine statistically significant relationships because of the small number of groups. It was observed that the miRNAs expression levels were positively correlated between HT and WCH patient. These results suggest that the miRNAs might have important role in the epigenetic aspect of ethiopathogenesis of HT and WCH for our understanding.

Keywords: miR-125a, miR-155, white coat hypertension

Alındığı Tarih: 06.04.2017

Kabul Tarihi: 25.04.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Hakan Yavuzer, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Geriatri Bilim Dalı, Kat: 2, 34098, İstanbul

e-posta: drhakanyavuzer@gmail.com

GİRİŞ

Hipertansiyon kardiyovasküler, serebrovasküler ve böbrek hastalıkları için en önemli değiştirilebilir risk faktörü olup, yüksek prevalansı nedeniyle dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur ⁽¹⁾. Yüksek arteriyel kan basıncına kronik maruziyet, uç-organ hasarına neden olarak doku ve organlarda yapısal ve işlevsel değişikliklerin gelişmesi sonucu hipertansiyonla ilişkili morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır ⁽²⁾. Hipertansiyon patogenezinde suçlanan mekanizmalar renin-anjiyotensin-aldosteron sistemin aşırı aktivasyonu, sempatik sinir sisteminin aşırı duyarlılığı, endotel disfonksiyonu, oksidatif stres ve bozulmuş anjiyogenezistir. Ancak, esansiyel hipertansiyonun moleküler patofizyolojisi hala net olarak aydınlatılamamıştır.

Beyaz önlük hipertansiyonu (BÖH) ilk kez 1988 yılında Thomas Pickering tarafından ofis kan basıncı ölçümlerinin yüksek olmasına rağmen, ev tansiyon ölçümlerinin normal olması olarak tanımlanmıştır ⁽³⁾. Bu hastaların normotansif popülasyona göre artmış bir kardiyovasküler risk faktörü olduğu ise ilk günden beri çok iyi bilinmektedir. Avrupa Hipertansiyon Derneği ve Avrupa Kardiyoloji Derneği'nin 2013 yılında güncellenen hipertansiyon tanı ve tedavi kılavuzunda, hekim tarafından ölçülen 3 ofis tansiyonunun $\geq 140/90$ mmHg ve 24 saatlik ambulatuvar kan basıncı ölçümünün $\leq 130/80$ mmHg veya gün içi ambulatuvar kan basıncı ölçümünün $\leq 135/85$ mmHg veya ev kan basıncı takiplerinin normal ($\leq 130-135/85$ mmHg) olması BÖH olarak tanımlanmıştır ^(4,5).

Hipertansif hastalarda uç-organ hasarını araştırmak için göz dibi incelemesi, mikroalbuminüri, sol ventrikül kütle indeksi ve karotis intima media kalınlığı ölçümleri gibi parametreler değerlendirilmektedir. Pamela ve ark. ⁽⁶⁾ ile Karter ve ark.'nın ⁽⁷⁾ yaptığı çalışmalarda BÖH hastalarında normotansiflere göre sol ventrikül kütle indeksinin arttığı fakat bu artışın hipertansif hastalardaki kadar olmadığı görülmüştür. Mikroalbuminüri düzeyleri açısından değerlendirildiğinde ise iki çalışmada da BÖH ile normotansifler arasında fark bulunmamıştır ^(6,7). Harvest çalışmasında erken evre hipertansif hastalar ve normotansif kişiler, aterosklerozun progresyonunu değerlendirmek amacıyla 5 yıl süre boyunca karotis intima media kalınlığı ölçümleri yapılarak takibe alınmış. BÖH'lü

hastalardaki karotis intima media kalınlığı değerleri normotansiflere göre çalışma başlangıcında ve 5 yıl sonra daha yüksek bulunmuş, kalınlığın daha hızlı arttığı görülmüştür. Fakat BÖH ile hipertansif hastaların karotis intima media kalınlıkları başlangıçta ve 5 yılın sonunda karşılaştırıldığında, aralarında bir farklılık olmadığı görülmüştür ⁽⁸⁾. Normotansif kişiler ile kıyaslandığında BÖH olan bireylerde, hipertansiyon, metabolik sendrom ve diyabetes mellitus sıklığının daha fazla olduğu bilinmektedir.

BÖH'lü hastalardaki kardiyovasküler hastalık ve inme riski, normotansiflere göre hafif artmış olsa da hipertansif ve maskeli hipertansiyonu olan hastalar kadar artmamıştır ^(9,10). Japonya'da yapılan bir çalışmada, BÖH hastalarının 10 yıl süre ile takibinde inme riskinde normotansiflere göre artış olmasına rağmen, istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır ⁽⁹⁾. Pierdomenico ve ark.'nın ⁽¹⁰⁾ kardiyak ve serebrovasküler riski değerlendirmek için yaptığı çalışmada, 1.732 hasta 6 yıl süre ile takip edildi. Hipertansif hastalarda kardiyak ve serebrovasküler riskin BÖH'lü hastalara kıyasla daha fazla olduğu, BÖH ile normotansif hastalar arasında fark olmadığı fakat BÖH hastalarının normotansiflere göre takip süresinde daha fazla antihipertansif tedaviye gereksinim duyduğu saptanmıştır. BÖH pre-hipertansif bir durum olup, hipertansiyon gelişim riski oldukça yüksektir. Yapılan bir diğer çalışmada, 81 BÖH hastasının 6 yıl süre ile takibi sonucunda hastaların %74'ünde (medyan 2,5 yıl) hipertansiyon geliştiği bildirilmiştir ⁽¹¹⁾. BÖH'ün de esansiyel hipertansiyon gibi etiyopatogenezi tam olarak bilinmemekte ve multifaktöryel etkenlerin sebep olduğu olduğu düşünülmektedir.

MikroRNA'lar (miRNA) küçük, kodlama yapmayan ve ~21-23 bp uzunluğunda RNA molekülleridir. MiRNA'lar messenger RNA (mRNA)'yı uyarmak veya post-transkripsiyonel olarak mRNA'yı inhibe ya da degrade ederek etkinliklerini göstermektedir. MiRNA'ların rolü birçok hastalıkta (diyabetes mellitus, metabolik sendrom ve kanser) iyi bilirse de kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon ile ilgili veriler oldukça yetersizdir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar miRNA'ların hipertansiyonun etiyopatogenezinde önemli rollerinin olabileceğini düşündürmektedir. Yu LP ve ark. ⁽¹²⁾ yaptığı çalışmada, hipertansif ve sağlıklı gönüllülerde bakılan 1700 miRNA arasında 46 miRNA anlamlı olarak farklı

bulunmuştur. Ancak, literatürde BÖH'ün epigenetik etiyopatogenezi üzerine yapılmış herhangi bir veri yoktur.

Çalışmamızın birinci amacı, hipertansiyon ile epigenetik ve moleküler ilişkisi daha önce gösterilmiş mikroRNAlardan miR-125a ve miR-155'in BÖH'un epigenetik etiyopatogenezi üzerine etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla plazma ekspirasyon seviyelerini BÖH, hipertansiyon ve normotansif hasta gruplarında tayin etmek ve karşılaştırmaktır. Çalışmamızın ikinci amacı, bu mikroRNA seviyelerinin klinik ve ambulatuvar kan basıncı ölçümleri ile ilişkisini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya alınan her hastaya ve kontrol grubundaki gönüllülere araştırmanın kapsamı hakkında bilgi verildikten sonra katılım için yazılı onamları alınmıştır. Çalışmanın Helsinki ilkelerine uygunluğu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve etik kurul onamı alınmıştır. (Tarih: 04/03/2014, sayı:6014).

Çalışma Populasyonu

Çalışmaya Ocak 2014 ile Haziran 2014 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıklar Ana Bilim Dalı, Genel Dahiliye polikliniğine başvuran 30 BÖH (10 erkek, 20 kadın, yaş ortalaması 45,3±7,1 yıl) ve 30 yeni tanı hipertansiyon hastası (13 erkek, 17 kadın, yaş ortalaması 47,2±5,4 yıl) dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak herhangi bir hastalığı olmayan 30 normotansif sağlıklı gönüllü (10 erkek, 20 kadın, yaş ortalaması 44,2±5,7 yıl) alınmıştır.

Brakiyal arteriyel basıncı, aynı doktor tarafından ardışık 5 gün içinde 3'er kez ölçülerek gerçekleştirildi. Tansiyon ölçümleri sessiz ortamda en az 5 dk. dinlenme sonrasında oturur vaziyette Riester marka (Riester big ben round, Jungingen, Germany) civalı tansiyon aleti ile sol koldan yapıldı. Ölçümlerin ortalaması sistolik kan basıncı (SKB) ve diyastolik kan basıncı (DKB) olarak kaydedildi.

Ateroskleroz için risk taşıyanlar (LDL>130 mg/dl, diyabetes mellitus, metabolik sendrom, vücut kütle indeksi (VKİ) >27 kg/m², sigara ve alkol kullanan),

aterosklerotik vasküler hastalık, uyku apnesi sendromu, kronik obstruktif akciğer hastalığı, astım, malignitesi olanlar, romatolojik ve endokrin hastalıkların belirti ve bulgularını taşıyanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Polikliniğimize başvurmadan önceki herhangi bir zamanda lipid metabolizmasını etkileyen (statin ve fibratlar) ve antioksidan ajanlar kullananlar çalışmadan çıkarıldı.

Kan Basıncı Ölçümü

Yirmi dört saatlik ambulatuvar kan basıncı ölçümü, çalışmaya alınan tüm bireylere uygulandı. Ölçümler Avrupa Hipertansiyon Cemiyetince onaylı Schiller marka, BR-102 cihazı ile sol koldan yapıldı⁽¹³⁾. Avrupa Hipertansiyon Derneği ve Avrupa Kardiyoloji Derneğinin sınıflandırmasına göre 24 saatlik Ambulatuvar Kan Basıncı Ölçümü (AKBÖ) ≥ 130/80 mm Hg ve/veya gün içi AKBÖ ≥ 135/85 mm Hg olması hipertansiyon olarak değerlendirildi⁽⁴⁾.

Kan Örneklerinin Toplanması ve RNA İzolasyonu

Tüm kan örnekleri 12 saat açlık sonrasında sabah aç olarak Etilendiamin Tetra asetik asit (ETDA) içeren vakumlu tüplere alındı. Serum örnekleri alındıktan sonra İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalında 4°C sıcaklıkta 3000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilerek beyaz ve kırmızı kan hücreleri serumdan uzaklaştırıldı, serumlar 2 ml'lik alikotlar halinde RNA ayrıştırması yapılana kadar -80°C buzdolabında saklandı.

Serum Örneklerinden RNA Ayrıştırılması

Otuz hipertansiyon, 30 BÖH ve 30 kontrolden alınan tüm kan örneklerin her birisinden 400 µL kullanılarak miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) yardımıyla total RNA ayrıştırılması üretici firmanın protokolüne uyularak yapıldı. RNA saflığı ve konsantrasyonu NanoDrop ND-2000c kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi (Thermo Fisher Scientific, Inc, Wilmington, DE).

cDNA sentezi ve Kantitatif Real-Time PCR

Her örneğin toplam RNA'sından alınan 2 uL ile ilk standart DNA sentezi (cDNA) "miScript II RT Kit" kullanılarak Qiagen firmasının protokolüne uygun

olarak yapıldı. MiRNA'ların ekspresyon seviyelerini takip etmek için Custom miScript miRNA PCR Array (Qiagen) kullanıldı. Daha önce yapılan çalışmalarda, hipertansiyon ile ilişkisi saptanmış miR-125a⁽¹⁴⁾ ve miR-155⁽¹⁵⁾ çalışıldı. MiRNA'ların ekspresyon düzeylerini normalize etmek için RNU6B kullanıldı. Kantitatif qRT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) oluşturulması için Roche LightCycler 480-II real-time cyclus (Roche, Basel, Switzerland) kullanıldı ve her örnek için 2 kez çalışıldı. Rölatif ekspresyon seviyelerini analiz etmek için daha önceki çalışmalarda kullanılan delta-delta-CT metodu kullanıldı⁽¹⁶⁾.

İstatistiksel hesap

Çalışmamızda BÖH ile çalıştığımız miRNA'ların ortalama rölatif ekspresyon düzeyleri arasındaki anlamlı bir fark bulabilmemiz için çalışma başlamadan önce yapılan güç analizinde %80 güç (2-taraf %5 anlamlılık) için gereken asgari hasta sayısı 56 (28 hasta her grup için) olarak bulundu. Tüm veriler Windows 22.0 versiyon için düzenlenen SPSS software (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Devamlılık gösteren değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmasında one-way ANOVA (Analysis of Variance) testi kullanıldı. Takibindeki post hoc değerlendirme ise Bonferroni metodu kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise ki-kare testi veya Fisher exact testi uygulandı. Sayısal verilerin korelasyonunda Pearson, kategorik değişkenlerin korelasyonunda Spearman yöntemleri kullanıldı. p değeri <0,05 ise istatistik olarak anlamlı kabul edil-

di. Devamlılık gösteren değerler ortalama ve standart sapma şeklinde verildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 30 BÖH (20 kadın, 10 erkek) hastasının yaş ortalaması 45,3±7,1, hipertansiyon (17 erkek, 13 kadın) hastasının yaş ortalaması 47,2±5,4 iken, 30 sağlıklı kontrolün yaş ortalaması 44,3±5,7 idi. Çalışma gruplarının demografik ve laboratuvar verileri Tablo 1'de verildi. Gruplar arasında yaş, cinsiyet dağılımı, VKİ ve bel çevresi ölçümlerinde fark saptanmadı. Gruplar arasında glukoz, HbA1c, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserit, tiroid stimulatör hormon, kreatinin ve kreatinin klirensi değerleri karşılaştırıldığında aralarında fark görülmedi (Tablo 1).

Çalışma gruplarının klinik ve ambulatuvar kan basıncı ölçümleri Tablo 2'de verildi. Klinik SKB ve DKB ölçümleri kontrol grubunda anlamlı olarak en düşük saptandı (sırasıyla p<0,001 ve p<0,001). 24 saatlik, gün içi ve gece SKB ve DKB ölçümleri anlamlı olarak hipertansiyon grubunda yüksek bulundu (hepsi için p<0,001).

Gruplar, saptanan miR-125a ve miR-155 ekspresyon seviyeleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 3, Şekil 1,2).

Çalışılan tüm bireylerin miR-125a ile miR-155 (r=0,861, p<0,001) ekspresyon seviyeleri anlamlı olarak aynı yönde ilişkili idi (Şekil 3). miR-125a seviyeleri ile klinik, kan basıncı ve laboratuvar ölçümleri

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik verileri ve laboratuvar sonuçları.

	Kontrol (n=30)	BÖH (n=30)	Hipertansiyon (n=30)	P
Cinsiyet (kadın/erkek)	20/10	20/10	17/13	0,65
Yaş (yıl)	44,3±5,7	45,3±7,1	47,2±5,4	0,164
Vücut kütle indeksi (kg/m ²)	23,6±6,1	23,8±1,3	23,7±1,4	0,772
Bel çevresi (cm)	85,3±6,7	85±5,2	83,1±4,5	0,239
Glukoz (mg/dl)	85,5±5,2	88,2±9,2	88,8±7,7	0,158
Hemoglobin A1c (%)	5,2±0,4	5,3±0,3	5,4±0,3	0,134
Total kolesterol (mg/dl)	176,8±23	182,8±16,1	181,16,5±	0,408
HDL (mg/dl)	58,9±13,2	53,6±10,7	53,2±11,2	0,117
LDL (mg/dl)	105,6±20,9	111,8±10,4	110,8±17	0,302
Trigliserit (mg/dl)	91,1±29,1	103,2±28,7	96,3±34,1	0,319
TSH (µIU/ml)	2,2±1,1	1,9±1,1	1,9±0,9	0,523
Kreatinin (mg/dl)	0,7±0,2	0,8±0,1	0,8±0,2	0,439
Kreatinin klirensi (ml/dk)	111,4±31,4	123,1±29,4	117,4±27,6	0,320

BÖH: Beyaz önlük hipertansiyonu, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, TSH: Tiroid stimulatör hormon

Tablo 2. Çalışma gruplarının klinik ve ambulator kan basıncı ölçümleri.

	Kontrol (n=30)	BÖH (n=30)	Hipertansiyon (n=30)	P
Klinik SKB (mm Hg)	121,7±6,9	148,8±4,3	149,6±5,3	<0,001 ^a
Klinik DKB (mm Hg)	75,2±5,5	94,3±3,6	94,7±3,8	<0,001 ^b
24 saatlik SKB (mm Hg)*	119,8±8,7	118,1±8,8	145,2±4,4	<0,001
24 saatlik DKB (mm Hg)*	71,6±6,4	74,3±5,7	91,7±3,9	<0,001
Gün içi SKB (mm Hg)*	122,1±9,9	121,8±9,3	151,4±4,5	<0,001
Gün içi DKB (mm Hg)*	78±8,4	77±7,6	96,5±3,5	<0,001
Gece SKB (mm Hg)*	108,9±6,8	110,1±8,2	127,4±6,8	<0,001
Gece DKB (mm Hg)*	68,1±5,3	66,6±4,1	78,6±6,6	<0,001

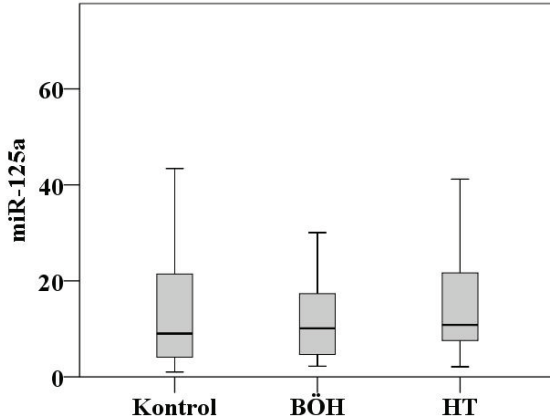
BÖH: Beyaz önlük hipertansiyonu, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı

^aBÖH ve kontrol, $p<0,001$, hipertansiyon ve kontrol, $p<0,001$; ^bBÖH ve kontrol, $p<0,001$, hipertansiyon ve kontrol, $p<0,001$.

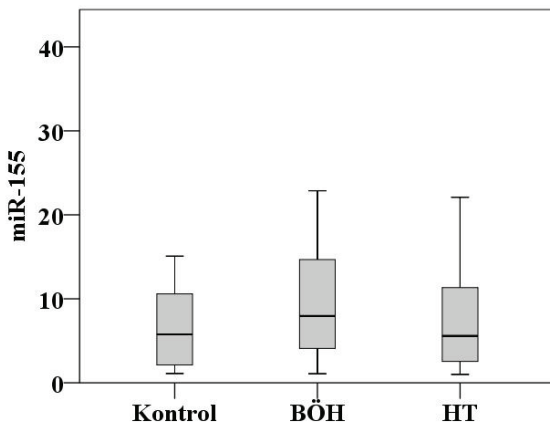
Tablo 3. Çalışma gruplarında miR-125a ve miR-155'in ekspresyon seviyeleri.

	Kontrol (n=30)	BÖH (n=30)	Hipertansiyon (n=30)	P
miR-125a	15,7±16,6	13,2±11,7	15,4±11,8	0,572
miR-155	8,5±8,9	10,2±8,2	8,4±8,4	0,284

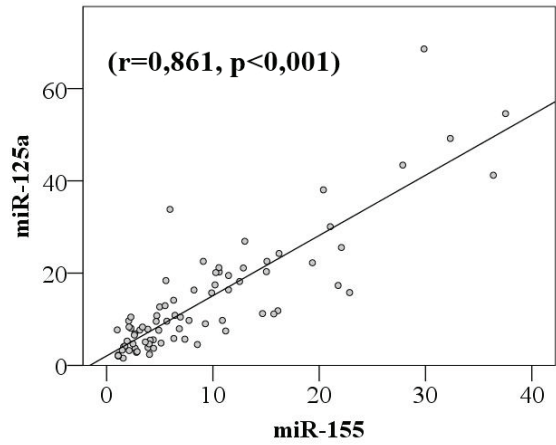
BÖH: Beyaz önlük hipertansiyonu



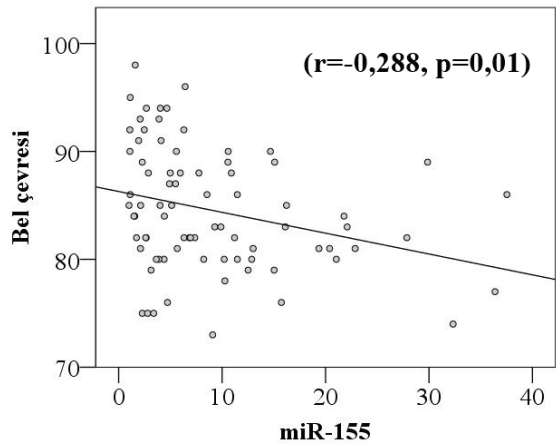
Şekil 1. Çalışma gruplarında miR-125a'nin ekspresyon seviyeleri.



Şekil 2. Çalışma gruplarında miR-155'in ekspresyon seviyeleri.



Şekil 3. Çalışmaya alınan tüm bireylerin miR-125a ile miR-155 düzeyleri arasındaki ilişki.



Şekil 4. Çalışmaya alınan tüm bireylerin bel çevresi (cm) ile miR-155 düzeyleri arasındaki ilişki.

arasında ilişki saptanmadı. miR-155 ile bel çevresi arasında anlamlı olarak ters yönde ilişki saptandı (Şekil 4). miR-155 ile diğer klinik, laboratuvar ve kan basıncı ölçümleri arasında ilişki görülmedi.

TARTIŞMA

Arteriyel hipertansiyon; miyokart enfarktüsü, konjesif kalp yetersizliği, inme ve kardiyovasküler olaylarla ilgili morbidite ve mortalitenin önemli bir risk faktörüdür. Dünya çapında bir milyardan fazla erişkin primer veya esansiyel hipertansiyondan etkilenmektedir. Hipertansiyonu önleme ve tedavi için mevcut stratejiler olayın patofizyolojisi ve nedenlerinin anlaşılmasında yetersiz kalmıştır. BÖH, yineleyen ofis ziyaretlerinde ofis kan basıncı ölçümlerinin yüksek olmasına rağmen, ev tansiyon ölçümlerinin normal olması veya ambulatuvar kan basıncı ölçümlerinin normal olduğu durumdur ⁽¹⁷⁾. BÖH'ün normotansifler ile hipertansifler arasında bir ara form olduğu ve hipertansiyonun öncülü olduğu bilinmektedir. Literatürde BÖH'ün normotansif kontrollere göre kardiyovasküler hastalık için artmış bir risk faktörü olduğu fakat bu riskin hipertansifler kadar olmadığı da iyi bilinmektedir ^(18,19).

MikroRNA'lar küçük, endojen ve kodlama yapmayan ≈21-23 bp uzunluğunda olan RNA molekülleridir. MikroRNA'lar mRNA'yı uyarmak veya post-transkripsiyonal olarak mRNA'yı inhibe ya da degrade ederek etkinliklerini göstermektedir. İnsan genomunun yaklaşık %60'ının ekspresyonunu regüle etmektedir. MikroRNA'lar diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanserler gibi birçok hastalıkta tanı ve izlemede potent biyo-belirteçler olup, tedavi hedeflerinin belirlenmesi için onlardan yararlanılabilmektedir.

Hipertansif bozuklukların patogenezinden sorumlu tutulan mekanizmalar, intravasküler hacim değişiklikleri, otonom sinir sistemi, renin anjiyotensin aldosteron sistemi (RAAS), vasküler mekanizmalar ve endotel disfonksiyonu şeklinde kısaca özetlenebilir.

Uzun dönemde arter basıncının ana belirleyicisi intravasküler hacim değişiklikleridir. Çoğu damar yatağı kan akımını kendi düzenler ve artmış kan basıncına karşın sabit akım sağlanabilmesi için vasküler yatağın direncini arttırması gerekir. Fakat zamanla periferik direnç artarak hipertansiyon gelişimine neden olur. Otonom sinir sistemi ise kardiyovasküler hemostazı, basınç, hacim ve kemoreseptör sinyalleri ile sağlar. Adrenerjik refleksler kısa dönemde, adrenerjik fonksiyon ise hormonal ve hacimle ilişkili faktörlerle

birlikte kan basıncının uzun dönemde düzenlenmesine katkıda bulunur. RAAS'ın arter basıncı üzerine etkisini ön planda anjiyotensin II'nin vazokonstriktör özellikleri ve aldosteronunun tuz tutucu özellikleri ile sağlanır. Bazı çalışmalarda, RAAS mekanizması ve HT arasındaki ilişki üzerine miR-155, miR-526b, miR-578, miR-34a ve miR-124'ün etkili olabileceği gösterilmiştir ⁽²⁰⁾.

Hipertansiyon patogenezinde sorumlu vasküler mekanizmalar, arterlerde direnç gelişimine neden olan damar çap ve kompliyans değişiklikleri ile açıklanmaktadır. Hipertansif hastalarda yapısal, mekanik ya da fonksiyonel değişiklikler küçük arter ve arteriyollerin çapını değiştirebilir. Artmış hücre sayısı, hücre boyutu ve intrasellüler matriks depozisyonu ile oluşan remodelling sonucu vasküler lümen çapı azalır ve artmış periferik direnç katkıda bulunur. Lümen çapı damarın esnekliği ile de ilişkilidir. Yüksek derecede esnek olan damarlar artmış volüme fazla basınç değişikliği olmadan uyum sağlarken, yarı sertleşmiş damarlarda ise damar hacmindeki küçük artışlar basınçta büyük artışlara neden olur. Vasküler mekanizmalardaki bu değişimlerin HT etyopatogenezindeki rolü ile ilişkili birtakım miRNA'larla (miR-143, miR-21, miR-221 ve miR-222) yapılmış çalışmalar da mevcuttur ^(14,20).

Hipertansiyon patofizyolojisini anlamaya yönelik çalışma yapılan en önemli mekanizmalardan biri de oluşan endotel disfonksiyonudur. Endotel hücreleri, damar duvarındaki düz kas hücreleri üzerinde vazodilatasyon ve konstrüksiyon yapan birçok madde salgılayarak hipertansiyon patogenezinde aktif rol alır. Bunların içinde en güçlüleri nitrik oksit (NO) ve endotelindir. NO; damar duvarındaki gerilim ve akıma bağlı mekanik değişiklikler ve vazokonstriktör hormonlar gibi birçok uyarana yanıt olarak endotel hücrelerinden salgılanarak normal kan basıncının sürdürülmesini sağlar ^(21,22). Yapılan çalışmalar sayesinde bozulmuş NO aktivitesi ve hipertansiyondaki sistemik arteriyel tonus artışı arasındaki ilişki bilinmektedir ⁽²³⁾. Ancak bu ilişkinin etiyojisi ve mekanizması çok iyi bilinmemekte olup, bozulmuş NO aktivitesinin hipertansiyondan önce mi geliştiği yoksa hipertansiyonun seyri sırasında mı geliştiği hala net değildir ⁽²⁴⁾. Bu nedenle NO seviyeleri çeşitli çalışmalarda hipertansif hastalarda yüksek ⁽²⁵⁾, etkilenmemiş ⁽²⁶⁾, düşük ⁽²⁷⁻³⁰⁾ olarak bildirilmiştir. Bu çelişkili sonuçlar; nitrik

oksid sentaz (NOS) polimorfizmi veya sentez üzerine etkili diyet, böbrek fonksiyonları ve hidrasyon durumu gibi birçok faktörden kaynaklanıyor olabilir (24). Endotelin ise endotel hücrelerinden salgılanan ve düz kas hücrelerine endotelin reseptör A (ETA) üzerinden etki ederek vazokonstriksiyona neden olan bir peptiddir (31). Bunun yanında, endotelin reseptör B (ETB) reseptörüne bağlanarak prostasiklin ve NO üretimi yoluyla vazodilatasyon da yapabilir. Ciddi hipertansiyon oluşturulan hayvan modellerinde küçük damarların endotelinde endotelin üretiminin artmış bulunması, hipertansiyon patogenezinde endotelinin rolünü desteklemektedir. Endotelin üretimindeki artış, kan basıncı yükselmesinin yanında hipertansif kişilerde küçük damarlarda hipertrofik yeniden şekillenmenin oluşumundan da sorumlu tutulmaktadır. Kombine ETA ve ETB reseptör blokleri olan Bosentan'ın esansiyel hipertansiyonlu hastalarda kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (32). Bu da endotelinin kan basıncı yükselmesindeki rolünü gösteren önemli bir kanıttır. Çalışmamızda baktığımız miR-125a ile bazı diğer miRNA'ların (miR-126, miR-217, miR-24 ve miR-130a) HT etyopatogenezinde rol aldığı çalışmalarda gösterilmiştir (20).

Biz de multifaktöryel bir hastalık olan hipertansiyon gelişimi üzerine etkili olan bu mekanizmalar ile ilişkili olduğu bilinen birçok mikroRNA'dan özellikle endotel disfonksiyonu ve RAAS yolunda etkili miR-125a ve miR-155 gen ekspresyon seviyelerini araştırdık. Çalışmamızda, HT ve BÖH hastaları ile sağlıklı bireylerin plazma miR-125a ve miR-155 ekspresyon düzeylerini ölçerek, bu düzeylerle klinik ve laboratuvar sonuçları arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık.

MiR-125a damar endotel hücrelerinden endotelin-1 ekspresyonunu inhibe etmektedir. Li ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı bir çalışmada, hipertansiyonu olan sıçanlarda miR-125a ekspresyonunun azaldığı ve endotelin-1 ekspresyonuyla ters ilişkili olduğunu göstermiştir (14). Pulmoner hipertansiyon üzerine yapılan bir çalışmada hipoksik pulmoner hipertansiyonlu sıçanların akciğer dokusunda hipoksik olmayan sıçanlardakilere kıyasla miR-125a ekspresyon seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuş. Fakat dolaşımdaki serum miR-125a ekspresyon seviyeleri pulmoner hipertansiyonu olan gruptaki sıçanlarda daha düşük bulunmuş. MiR-125a'nın pulmoner hipertansiyon etyo-patogenezinde önemli bir rolünün olabile-

ceği ve gelecekte pulmoner hipertansiyon tedavisinde alternatif bir hedef olabileceği vurgulanmıştır (33). Çalışmamızda, miR-125a ekspresyon seviyeleri en yüksek kontrol grubunda olmasına rağmen, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

MiR-155 endotelisel NOS (eNOS) enzimini regüle ederek ve tip-1 anjiyotensin II reseptörünü baskılayarak hipertansiyon gelişimine etki etmektedir (15,34). Sun ve ark.'nın (15) yaptığı çalışmada, miR-155, 3'-UTR'ye (3' untranslated regions) bağlanarak eNOS-mRNA stabilitesini azaltıp eNOS seviyelerini baskıladığını göstermişlerdir. MiR-155'in eNOS seviyelerini doza bağımlı olarak azalttığını ve eNOS proteinin miR-155'in direkt bir hedefi olduğunu düşünmüşlerdir. Ayrıca mutant bir miR-155 ile de eNOS seviyelerinin baskılanamadığı gözlemlenmiştir. Diğer bir çalışmada ise, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde çalışılmış ve artmış miR-155 ekspresyon seviyeleri ile eNOS seviyeleri ve aktivitelerinin azaldığı, buna ilaveten TNF- α tedavisi ile miR-155 ekspresyon seviyelerinin arttığı ve bununla uyumlu olarak eNOS seviyelerinin baskılandığı gözlemlenmiştir. Keza anti-miR-155 kullanılarak TNF- α ile baskılanan eNOS seviyelerinin yine arttığı görülmüştür (34). Çalışmamızda, miR-155 ekspresyon düzeyleri hipertansiyon grubunda en düşük saptanmasına karşın, tüm gruplar arasında miR-155 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı. miR-125a ile miR-155 arasında ileri derecede anlamlı aynı yönde bir ilişki görüldü. miR-155'in bel çevresi ölçümü ile de ters yönde anlamlı bir ilişkinin olması metabolik sendromun önemli bir komponenti olan hipertansiyon ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, çeşitli mikroRNA ekspresyon düzeyleri ile klinik ve ambulatuvar kan basıncı ölçümleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Kontaraki ve ark.'nın (35) yaptığı bir çalışmada, 24 saatlik ambulatuvar diyastolik kan basıncı ölçümleri ile miR-143, miR-145, miR-21 ve miR-133 düzeyleri arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, 24 saatlik ambulatuvar sistolik ve diyastolik kan basıncı ölçümü ile miR-296-5p ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı olarak ters yönde ilişki olduğu görülmüştür (36). miR-125a ve miR-155 ile yapılan çalışmalarda, ambulatuvar ve klinik kan basıncı ölçümleri arasında bir ilişki görülmemiştir (37,38). Çalışmamızda, miR-125a ve miR-155 ekspres-

yon seviyeleri ile klinik ve ambulatuvar kan basıncı ölçümleri arasında bir ilişki görülmedi.

Çalışmamızda, maliyet etkinliği çok yüksek olduğundan insan genomundaki tüm mikroRNA'ları taramak yerine literatürde hipertansiyon ile ilişkisi en çok bilinen mikroRNA'lardan miR-155 ile miR-125a ekspresyon seviyeleri araştırılabilir. Yine yüksek maliyet etkinliği nedeniyle miR-125a ve miR-155 ekspresyon düzeyleri ile endotel disfonksiyonu ile olan ilişkilerini belirlemede hedef moleküller olan endotelin-1 ve eNOS düzeylerine bakılmadı. Dolayısıyla çalıştığımız plazma mikroRNA ekspresyon düzeyleri yalnızca tanısal bir gösterge olarak araştırılabilir. Mikro-array veya RNA sekanslamayla tüm mikroRNA profili ortaya çıkarılırsa hipertansiyon ve BÖH için yeni aday belirteçler belirlenmesine ve güncel belirteçlerin doğrulanmasına daha yardımcı olunabileceğini düşünmekteyiz. Çalışma gruplarımızdaki olgu sayısını güç analizi sonrası belirlememize rağmen, grupların nisbi olarak küçük olmasından dolayı, hipertansiyon ve BÖH'ün altta yatan mekanizmalarının tam anlaşılması için daha ileri in vitro ve in vivo çalışmalar gerektirmektedir. MikroRNA'ların arter kan basıncındaki pato-fizyolojik potansiyellerini ve de endotelial disfonksiyon, ateroskleroz ve uç organ hasarı ile ilişkisini açıklayabilmek için daha kapsamlı ve ileri işlevsel çalışmalarla aydınlatılmasına gereksinim vardır.

Çalışmamızda, hipertansiyon ve BÖH'ün etiopatogenezini epigenetik yönden araştırdık ve çıkan sonuçlar literatür verileri ile uyumluydu. Ancak olgu sayısının az olması nedeni ile anlamlı bir ilişki gösterilemedi. Çalışmamızda, hipertansiyon ve BÖH hastalarının mikroRNA ekspresyon düzeylerinin tutarlı olduğu ve aynı yönde değişim gösterdiği görüldü. Bu sonuçlar, hipertansiyon ve BÖH'ü anlamamıza yönelik miRNAların önemli etkileri olabileceğini ön görmektedir. Gelecekte hipertansiyon ve BÖH'lü hastaların tanı, tedavi ve takibinde mikroRNA'lar önemli katkılar sağlayabilir ve klinik kullanıma girebilir. Teknolojinin gelişimi ile yeni nesil sekanslama yöntemleri, genetik ve epigenetik ile hipertansiyon ve BÖH arasında daha fazla ilişki kurulabilir.

KAYNAKLAR

1. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Whelton PK,

He J. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *J Hypertens* 2004;22(1):11-9.

- <https://doi.org/10.1097/00004872-200401000-00003>
2. Nadar SK, Tayebjee MH, Messerli F, Lip GY. Target organ damage in hypertension: pathophysiology and implications for drug therapy. *Curr Pharm Des* 2006;12(13):1581-92. <https://doi.org/10.2174/138161206776843368>
 3. Pickering TG, James GD, Boddie C, et al. How common is white coat hypertension? *JAMA* 1988;259(2):225-8. <https://doi.org/10.1001/jama.1988.03720020027031>
 4. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2013;31(7):1281-357. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc>
 5. James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA* 2014;311(5):507-20. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.284427>
 6. Mancia G, Bombelli M, Facchetti R, et al. Increased long-term risk of new-onset diabetes mellitus in white-coat and masked hypertension. *J Hypertens* 2009;27(8):1672-8. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3283232be5f9>
 7. Karter Y, Curgunlu A, Altinisik S, et al. Target organ damage and changes in arterial compliance in white coat hypertension. Is white coat innocent? *Blood Press* 2003;12(5-6):307-13. <https://doi.org/10.1080/08037050310021406>
 8. Puato M, Palatini P, Zanardo M, et al. Increase in carotid intima-media thickness in grade I hypertensive subjects: white-coat versus sustained hypertension. *Hypertension* 2008;51(5):1300-5. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.106773>
 9. Ugajin T, Hozawa A, Ohkubo T, et al. White-coat hypertension as a risk factor for the development of home hypertension: the Ohasama study. *Arch Intern Med* 2005;165(13):1541-6. <https://doi.org/10.1001/archinte.165.13.1541>
 10. Pierdomenico SD, Cuccurullo F. Prognostic value of white-coat and masked hypertension diagnosed by ambulatory monitoring in initially untreated subjects: an updated meta analysis. *Am J Hypertens* 2011;24(1):52-8. <https://doi.org/10.1038/ajh.2010.203>
 11. Pierdomenico SD, Lapenna D, Di Mascio R, Cuccurullo F. Short- and long-term risk of cardiovascular events in white-coat hypertension. *Journal of Human Hypertension* 2008;22(6):408-14. <https://doi.org/10.1038/jhh.2008.6>
 12. Yu LP, Shi LY, Zhang MM, et al. MicroRNA expression profile and pathogenetic initial study in essential hypertension. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 2011;39(6):488-93.
 13. O'Brien E, Coats A, Owens P, et al. Use and interpretation of ambulatory blood pressure monitoring: recommendations of the British hypertension society. *BMJ* 2000;320(7242):1128-34. <https://doi.org/10.1136/bmj.320.7242.1128>
 14. Li D, Yang P, Xiong Q, et al. MicroRNA-125a/b-5p in-

- hibits endothelin-1 expression in vascular endothelial cells. *J Hypertens* 2010;28(8):1646-54.
<https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32833a4922>
15. Sun HX, Zeng DY, Li RT, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension* 2012;60(6):1407-14.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.197301>
 16. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001;25(4):402-8.
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
 17. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *Blood Press* 2014;23(1):3-16.
<https://doi.org/10.3109/08037051.2014.868629>
 18. Yavuzer S, Yavuzer H, Cengiz M, et al. Endothelial damage in white coat hypertension: role of lectin-like oxidized low-density lipoprotein-1. *J Hum Hypertens* 2015;29(2):92-8.
<https://doi.org/10.1038/jhh.2014.55>
 19. Sung SH, Cheng HM, Wang KL, et al. White coat hypertension is more risky than prehypertension: important role of arterial wave reflections. *Hypertension* 2013;61(6):1346-53.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00569>
 20. Batkai S, Thum T. MicroRNAs in hypertension: mechanisms and therapeutic targets. *Curr Hypertens Rep* 2012;14(1):79-87.
<https://doi.org/10.1007/s11906-011-0235-6>
 21. Nava E, Luscher TF. Endothelium-derived vasoactive factors in hypertension: nitric oxide and endothelin. *J Hypertens Suppl* 1995;13(2):S39-48.
<https://doi.org/10.1097/00004872-199508001-00007>
 22. Higashi Y, Oshima T, Ozono R, Matsuura H, Kambe M, Kajiyama G. Effect of L-arginine infusion on systemic and renal hemodynamics in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 1999;12(1 Pt 1):8-15.
[https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(98\)00204-0](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(98)00204-0)
 23. Hermann M, Flammer A, Luscher TF. Nitric oxide in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2006;8(12 Suppl 4):17-29.
<https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2006.06032.x>
 24. Dominiczak AF, Bohr DF. Nitric oxide and its putative role in hypertension. *Hypertension* 1995;25(6):1202-11.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.25.6.1202>
 25. Zavaroni I, Ardigo D, Rossi PC, et al. Relationship between plasma nitric oxide concentration and insulin resistance in essential hypertension. *Am J Hypertens* 2004;17(7):549-52.
<https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2004.02.009>
 26. Cittadino M, Goncalves de Sousa M, Ugar-Toledo JC, et al. Biochemical endothelial markers and cardiovascular remodeling in refractory arterial hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2003;25(1):25-33.
<https://doi.org/10.1081/CEH-120017738>
 27. Armas-Padilla MC, Armas-Hernandez MJ, Sosa-Canache B, et al. Nitric oxide and malondialdehyde in human hypertension. *Am J Ther* 2007;14(2):172-6.
<https://doi.org/10.1097/01.pap.0000249914.75895.48>
 28. Kedziora-Kornatowska K, Kornatowski T, Bartosz G, et al. Production of nitric oxide, lipid peroxidation and oxidase activity of ceruloplasmin in blood of elderly patients with primary hypertension. Effects of perindopril treatment. *Aging Clin Exp Res* 2006;18(1):1-6.
<https://doi.org/10.1007/BF03324634>
 29. Tillman K. Relationship between physical fitness and selected personality traits. *Res Q* 1965;36(4):483-9.
 30. Curgunlu A, Uzun H, Bavunoglu I, et al. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in white coat hypertension. *J Hum Hypertens* 2005;19(8):629-33.
<https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001867>
 31. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995;333(6):356-63.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199508103330607>
 32. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlton V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan Hypertension Investigators. *N Engl J Med* 1998;338(12):784-90.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199803193381202>
 33. Huber LC, Ulrich S, Leuenberger C, et al. microRNA-125a in pulmonary hypertension: Regulator of a proliferative phenotype of endothelial cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2015.
<https://doi.org/10.1177/1535370215579018>
 34. Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, Schmittgen TD, Elton TS. MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts. *J Biol Chem* 2006;281(27):18277-84.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M601496200>
 35. Kontaraki JE, Marketou ME, Zacharis EA, Parthenakis FI, Vardas PE. Differential expression of vascular smooth muscle-modulating microRNAs in human peripheral blood mononuclear cells: novel targets in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2014;28(8):510-6.
<https://doi.org/10.1038/jhh.2013.117>
 36. Cengiz M, Yavuzer S, Kilickiran Avcı B, et al. Circulating miR-21 and eNOS in subclinical atherosclerosis in patients with hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2015:1-7.
<https://doi.org/10.3109/10641963.2015.1036064>
 37. Rink C, Khanna S. MicroRNA in ischemic stroke etiology and pathology. *Physiol Genomics* 2011;43(10):521-8.
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00158.2010>
 38. Xu CC, Han WQ, Xiao B, et al. Differential expression of microRNAs in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Sheng Li Xue Bao* 2008;60(4):553-60.