

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ESANSİYEL HİPERTANSİYON ETİYOLOJİSİNDE EKSOZOMAL miRNA
BİYOBELİRTEÇ POTANSİYELİ VE EKSPRESYON ANALİZİ**

İLKE KIZILYAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. SİNEM YALÇINTEPE

EDİRNE-2023

İLKE KIZILYAR'ın hazırladığı “ESANSİYEL HİPERTANSİYON ETİYOLOJİSİNDE EKSOZOMAL miRNA BİYOBELİRTEÇ POTANSİYELİ VE EKSPRESYON ANALİZİ” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE

Prof. Dr. Hakan GÜRKAN

Doç. Dr. Hilmi TOZKIR

Tez Savunma Tarihi: 01/12/2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. SİNEM YALÇINTEPE
Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Özlem ÇETİN ERDOĞAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

01/12/2023

İLKE KIZILYAR

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Esansiyel Hipertansiyon Etiyolojisinde Eksozomal miRNA Biyobelirteç Potansiyeli Ve Ekspresyon Analizi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Kan basıncı, kardiyovasküler sistemde tüm dokulara yeterli perfüzyon sağlamak için düzenlenmekte ve çeşitli mekanizmaların etkileşimi ile belirlenmektedir. Hipertansiyon, kardiyovasküler sistemde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Hipertansiyon vakalarının yaklaşık % 90-95'i belirgin bir tıbbi neden olmaksızın meydana gelen ve Esansiyel Hipertansiyon olarak tanımlanan hipertansiyon türüne sahiptir. Esansiyel hipertansiyon; kardiyovasküler, serebral ve renal bozukluklar için önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla esansiyel hipertansiyonda erken tanı, hayati önem taşımaktadır.

Dolaşımdaki eksozomlardan köken alan mikroRNA'ların, önemli biyobelirteç potansiyellerine sahip olduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmasında, eksozomal mikroRNA'ların ekspresyon düzeylerinin analizi ile birlikte esansiyel hipertansiyon için biyobelirteç potansiyellerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda literatür taraması yapılmış ve esansiyel hipertansiyon için biyobelirteç potansiyeli taşıdığı düşünülen; eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p'nin araştırılması planlanmıştır.

Eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon düzeyleri Real Time Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi ile analiz edilmiş ve normalizasyon standardı olarak U6 snRNA geni kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında yeni tanı almış esansiyel hipertansiyon hastası bireylerden oluşan olgu grubu ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında; eksozomal

miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmış olup istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Örneklem gurubuna dahil olan gönüllülere ait demografik özellikler belirlenmiş ve bu özellikler ile tespit edilen eksozomal mikroRNA ekspresyon düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkisi, uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Korelasyon analizleri, bireyin hasta veya sağlıklı olma durumundan bağımsız olarak yapılmıştır. Analiz sonucunda eksozomal miR-21-5p ekspresyon düzeyi ile yaş; eksozomal miR-155-5p ekspresyon düzeyi ile yaş ve vücut kitle indeksi arasında pozitif korelasyon ilişkisi saptanmıştır. Saptanan bu korelasyon ilişkileri üzerine literatür taraması yapılmış ve yapılan tez çalışmasının literatürdeki mevcut verileri destekler nitelikte olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile elde edilen verilerin, daha büyük kohortları kapsayan ileri çalışmalar için fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 138

Anahtar Kelimeler : Esansiyel Hipertansiyon, Eksozomal mikroRNA, Biyobelirteç, Real-Time PCR

Master's Thesis

Exosomal miRNA Biomarker Potential and Expression Analysis in the Etiology of Essential Hypertension

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Blood pressure is regulated to provide adequate perfusion to all tissues in the cardiovascular system and is determined by the interaction of various mechanisms. Hypertension leads to functional and structural changes in the cardiovascular system. Approximately 90-95% of hypertension cases have a type of hypertension defined as Essential Hypertension, which occurs for no apparent medical reason. Essential hypertension is a major risk factor for cardiovascular, cerebral, and renal disorders. Therefore, early diagnosis of essential hypertension has a vital importance.

microRNAs originating from circulating exosomes are known to have an important biomarker potential. In this thesis, we aimed to analyze the expression levels of exosomal microRNAs and investigate their biomarker potential for essential hypertension. In line with this goal, a literature review was conducted and it was planned to investigate exosomal miR-21-5p, exosomal miR-155-5p, and exosomal miR-1296-5p, which are thought to have biomarker potential for essential hypertension.

Exosomal miR-21-5p, exosomal miR-155-5p, and exosomal miR-1296-5p expression levels were analyzed by Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction method, and the U6 snRNA gene was used as a normalization standard.

Exosomal miR-21-5p, exosomal miR-155-5p, and exosomal miR-1296-5p expression levels were compared between the case group consisting of newly diagnosed essential hypertension patients and the control group consisting of healthy individuals, and no statistically significant difference was found.

The demographic characteristics of the volunteers included in the sample group were determined and the correlation relationship between these characteristics and the detected exosomal microRNA expression levels were analyzed using appropriate statistical methods. Correlation analyses were performed independently of whether the individual was sick or healthy. As a result of the analysis, positive correlations were found between exosomal miR-21-5p expression level and age, and between exosomal miR-155-5p expression level and age and body mass index. A literature review was conducted on these correlation relationships and it was seen that the thesis study supports the existing data in the literature.

As a result, it is thought that the data obtained in this thesis will be useful for further studies involving larger cohorts.

Year : 2023

Number of Pages : 138

Keywords : Essential Hypertension, Exosomal microRNA, Biomarker, Real-Time PCR

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecim boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp her zaman son kararı bana bırakarak sorumluluk bilincimi artıran ve kendimi geliştirmeme alan tanıyan danışman hocam Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE'ye (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı) sonsuz anlayışı ve sabrı için teşekkürlerimi sunuyorum.

Hayatım boyunca maddi manevi her açıdan arkamda olup aldığım her kararda koşulsuz desteklerini daima bana hissettiren canım annem Semra KIZILYAR'a ve canım babam Fuat KIZILYAR'a üzerimdeki bütün emekleri için teşekkür ediyorum.

Hep bir adım önümden gidip yolumu aydınlatan ve desteğiyle bana güç veren Alperen DİLEKLİ'ye her zaman yanımda olduğu ve beni cesaretlendirdiği için teşekkür ediyorum.

Tez çalışmama katkılarından dolayı başta Prof. Dr. Hakan GÜRKAN (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı) olmak üzere Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı hocalarına, Prof. Dr. Necdet SÜT (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı) ve Prof. Dr. Servet ALTAY'a (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı), Uzm. Biyolog Hazal SEZGİNER GÜLER (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı) ile Öğr. Gör. Drenushe ZHURİ İPÇİ'ye (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı) ve tüm ekip arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

İlke KIZILYAR

Bu tez çalışması, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından 2023/85 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xx
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
EKLER DİZİNİ.....	xxii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar.....	4
2.2. Arteriyel Hipertansiyon	5
2.2.1. Arteriyel Hipertansiyonun Patofizyolojisi	9
2.2.2. Arteriyel Hipertansiyonun Tanısı	16
2.2.3. Arteriyel Hipertansiyonun Çeşitleri	20
2.2.3.1. Esansiyel (Primer / İdiyopatik) Hipertansiyon	23
2.2.4. Arteriyel Hipertansiyonda Müdahale ve Tedavi Yaklaşımları	27
2.2.4.1. Farmakolojik Olmayan Müdahale Yaklaşımları	28
2.2.4.2. Farmakolojik Tedavi Yaklaşımları.....	33
2.3. Kodlamayan RNA (non-coding RNA / ncRNA)	37
2.3.1. non-coding RNA Çeşitleri.....	39
2.4. mikroRNA'lar	41
2.4.1 mikroRNA'ların Biyogenezi	43

2.4.2 Dolaşımdaki mikroRNA'ların Kardiyovasküler Hastalıklar ve Hipertansiyon ile İlişkisi	44
2.4.3. Dolaşımdaki mikroRNA'ların Tedavi Potansiyeli	45
2.5. Eksozomlar	46
2.5.1. Eksozomların Biyogenezi	48
2.5.2. Eksozomların İzolasyonu Ve Karakterizasyonu	51
2.6. Eksozomal mikroRNA'lar	52
2.7. Biyobelirteçler	55
2.8. Eksozomal mikroRNA'ların Kardiyovasküler Hastalıklar ile İlişkisi ve Biyobelirteç Potansiyeli	57
2.9. Eksozomal miRNA'ların Esansiyel Hipertansiyon ile İlişkisi ve Biyobelirteç Potansiyeli	61
2.9.1. Eksozomal miR-21-5p Biyobelirteç Potansiyeli	64
2.9.2. Eksozomal miR-155-5p Biyobelirteç Potansiyeli	65
2.9.3. Eksozomal miR-1296-5p Biyobelirteç Potansiyeli	66
2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	67
2.11. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu	67
2.11.1. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminde Kısıtlamalar	68
2.11.2. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve mikroRNA'lar	69
2.11.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Normalizasyon	71
BÖLÜM 3	73
MATERYAL VE YÖNTEM	73
3.1. Materyal	73
3.1.1. Örneklerin Toplanması	73

3.1.2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	73
3.1.3. Etik Kurul ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Onayı	73
3.2. Yöntem	74
3.2.1. Periferik Venöz Kan Örneklerinden Serum Eldesi ve Muhafazası	74
3.2.2. İzolasyon Aşaması	74
3.2.2.1. Serumdan Eksozom İzolasyonu	75
3.2.2.2. Eksozomdan miRNA İzolasyonu	75
3.2.3 Eksozomal miRNA Konsantrasyon ve Spektrum Ölçümü	76
3.2.4. Reverse Transkripsiyon Aşaması	77
3.2.5. Real Time PCR Aşaması	78
3.2.6. Hesaplamalar ve İstatistiksel Değerlerin Saptanması	79
3.2.7. İstatistiksel Analiz	80
BÖLÜM 4	82
BULGULAR	82
4.1. Örneklem Grupları Arasında Niceliksel Değerlerin ve Kategorik Verilerin Karşılaştırması	82
4.2. Örneklem Grupları Arasında Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması	83
4.3. Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p Ekspresyon Seviyelerinin Örneklem Grubuna ait Çeşitli Parametreler ile İlişkisi	84
4.4. Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p ile Çeşitli Parametreler Arasındaki Korelasyon İlişkisi	85
BÖLÜM 5	88
TARTIŞMA	88
BÖLÜM 6	99
SONUÇ	99

KAYNAKLAR	101
EKLER.....	111
<i>Ek-1</i>	111
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	111
<i>Ek-2</i>	115
Etik Kurul Onay Formu.....	115
ÖZGEÇMİŞ	116



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm:	santimetre
Ct:	Cycle treshold (Döngü eşiğı)
dl:	desilitre
g:	gram
kb:	kilobaz
kg:	kilogram
mg:	miligram
m²:	metrekare
mmHg:	milimetre cıva
mL:	mililitre
nm:	nanometre
rpm:	Revolutions per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
μl:	mikrolitre
Δ:	Delta
ΔCt:	Delta Cycle treshold (Delta Döngü eşiğı)
ΔΔCt:	Delta delta Cycle treshold (Delta Delta Döngü eşiğı)
<:	Küçüktür
>:	Büyüktür
≤:	Küçük veya eşittir

Kısaltmalar

A:	Adenin
ACE:	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ACE1:	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 1
ACE2:	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2
AF:	Atrial Fibrilasyon
Ago:	Argonaute
AH:	Arteriyel Hipertansiyon
AHD:	Avrupa Hipertansiyon Derneği
AKB:	Ambulatuvar Kan Basıncı
AKD:	Avrupa Kardiyoloji Derneği
AKM:	Atomik Kuvvet Mikroskopisi
AMO:	Anti miRNA Oligonükleotidler
Ang II:	Anjiyotensin II
ARB:	Anjiyotensin Reseptör Blokerleri
AS:	Ateroskleroz
ASO:	Antisens Oligonükleotid
AT1R:	Anjiyotensin II Reseptörü Tip 1
BAA:	Büyük Arter Aterosklerozu
BEST:	Biomarkers Endpoints and Other Tools (Biyobelirteçler, Son Noktalar Ve Diğer Araçlar)
BSV:	Büyük Safen Veni
C:	Sitozin
CAM:	Cell Adhesion Molecules (Hücre Adezyon Molekülleri)
CD:	Cluster Of Differentiation (Farklılaşma Kümesi)
cDNA:	Complementary DNA (Komplementer DNA)
cel-miR-39:	<i>Caenorhabditis elegans</i> mikroRNA-39
Ct:	Cycle treshold (Döngü eşiği)
DASH:	Dietary Approaches to Stop Hypertension (Hipertansiyonu Durdurmak için Diyet Yaklaşımları)
DH:	Dirençli Hipertansiyon

DHB:	Dünya Hipertansiyon Birliği
DIS:	Dinamik Işık Saçılımı
DKB:	Diyastolik Kan Basıncı
DKF:	Dünya Kalp Federasyonu
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EH:	Esansiyel Hipertansiyon
EKB:	Evde Kan Basıncı
EKG:	Elektrokardiyografi
ELISA:	Enzim-bağlantılı İmmünosorbent Testi
EM:	Ekstraselüler Matriks
eNOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ER:	Endoplazmik Retikulum
ERS:	Endoplazmik Retikulum Stresi
ESCRT:	Endosomal Sorting Complex Required For Transport (Taşıma İçin Gerekli Endozomal Ayırma Kompleksi)
EV:	Ekstrasellüler Vezikül
FDA:	Food And Drug Administration (Gıda Ve İlaç Dairesi)
GAPDH:	Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrojenaz
HbA1c:	Glikozile Hemoglobin
HCMV:	İnsan Sitomegalovirüs
HDA:	Helicase Dependent Amplification (Helikaz Bağımlı Amplifikasyon
HDL:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HERB-DH1:	HERB Digital Hypertension 1
HKG:	Housekeeping Gen
HOH:	Hedef Organ Hasarı
HOME BP:	Home and Online Management and Evaluation of Blood Pressure
HSP:	Heat Shock Protein (Isı Şok Proteini)
HT:	Hipertansiyon
IAK:	İnternal Amplifikasyon Kontrolü
ILV:	İntraluminal Vezikül
IL-17:	İnterlökin-17

İPF:	İdiyopatik Pulmoner Fibrozis
izomiR:	mikroRNA İzofomu
KAH:	Koroner Arter Hastalığı
KB:	Kan Basıncı
KKB:	Kalsiyum Kanal Blokerleri
KKH:	Koroner Kalp Hastalığı
KKS:	Kallikrein-Kinin Sistemi
KLF5:	Krüppel Benzeri Faktör 5
KPT:	Katlanmamış Protein Tepkisi
KSD:	Klinik Sonuç Değerlendirmesi
KV:	Kardiyovasküler
KVH:	Kardiyovasküler Hastalıklar
KY:	Kalp Yetmezliği
LDL:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
lincRNA:	Uzun İntergenik RNA
LNA:	Locked Nucleic Acids (Kilitli Nükleik Asitler)
lncRNA:	Uzun Kodlamayan RNA
MAPK:	Mitojenle Aktive Protein Kinaz
MHC:	Major Histocompatibility Complex (Majör Histokompatibilite Kompleksi)
MI:	Miyokard İnfarktüsü
MKH:	Mezenkimal Kök Hücre
MIQE:	Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments (Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR Deneylerinin Yayınlanması için Minimum Bilgi Kılavuzu)
miRNA:	mikro RNA
miR-21:	mikroRNA-21
miR-21-5p:	mikroRNA-21-5p
miR-21a-5p:	mikroRNA-21a-5p
miR-155:	mikroRNA-155
miR-155-5p:	mikroRNA-155-5p
miR-1296-5p:	mikroRNA-1296-5p

MMP:	Matriks Metalloproteinazlar
MÖA:	Mayıs Ölçüm Ayı
mRNA:	Mesajcı RNA
MV:	Mikro Vezikül
MVC:	Multiveziküler Cisim
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
ncRNA:	Non-coding RNA (Kodlamayan RNA)
NIH:	National Institutes Of Health (Ulusal Sağlık Enstitüsü)
NIHSS:	National Institutes Of Health Stroke Scale Score (Ulusal Sağlık Enstitüleri İnme Ölçeği)
NLRP3:	NLR Ailesi Pyrin Domain İçeren 3
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
Nox:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Oksidaz
OH:	Ortostatik Hipotansiyon
OKB:	Ofis Kan Basıncı
OKT:	Optik Koherens Tomografi
OS:	Oksidatif Stres
PAH:	Periferik Arter Hastalığı
PASR:	Promotör İlişkili Küçük RNA
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PDCD4:	Programmed Cell Death 4 (Programlanmış Hücre Ölümü 4)
pH:	Power Of Hydrogen
piRNA:	Piwi-Etkileşimli RNA
PKMH:	Periferik Kan Mononükleer Hücreleri
Pol II:	RNA Polimeraz II
pre-miRNA:	Prekürsör miRNA
pri-miRNA:	Primer Transkript miRNA
PROMPT:	Promotör Upstream Transkriptleri
qPCR:	Quantitative Polymerase Chain Reaction (Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RAAS:	Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
Rab GTPaz:	Guanin Nükleotid Bağlayıcı Proteinler

RDN:	Renal Denervasyon
RISC:	RNA-İndüklenmiş Susturma Kompleksi
RKT:	Reaktif Klor Türleri
RNA:	Ribonükleik Asit
RNAi:	RNA İnterferans
RNaz:	Ribonükleaz
RNT:	Reaktif Nitrojen Türleri
ROC:	Receiver Operating Characteristic (Alıcı Çalışma Karakteristiği)
ROT:	Reaktif Oksijen Türleri
rRNA:	ribozomal RNA
RT:	Ters Transkriptaz (Reverse Transcriptase)
RT-qPCR:	Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction)
RVH:	Renovasküler Hipertansiyon
SERPINE1:	Serpin Family E Member 1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitörü Tip 1)
SH:	Sekonder Hipertansiyon
SHS:	Spontan Hipertansif Sıçan
siRNA:	Küçük Etkileşimli RNA
SKB:	Sistolik Kan Basıncı
SNARE:	Çözünür N-Etilmaleimide Duyarlı Füzyon Bağlanma Proteinini Reseptörleri
snRNA:	Küçük nükleer RNA
snoRNA:	Küçük Nükleolar RNA
snoRNP:	Küçük Nükleolar Ribonükleoprotein
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SSS:	Sempatik Sinir Sistemi
SVH:	Sol Ventrikül Hipertrofisi
TARBP2:	Trans-Activation-Responsive RNA-Binding Protein (Trans-Aktivasyona Duyarlı RNA-Bağlayıcı Protein)
TEM :	Transmisyon Elektron Mikroskobu

TERRA:	Telomerik Tekrar İçeren RNA
tiRNA:	Transkripsiyon Başlatıcı RNA
tRNA:	Transfer RNA
TSS:	Transkripsiyonel Başlangıç Bölgesi
TSS-a RNA:	Transkripsiyonel Başlangıç Bölgesi İlişkili RNA
T-UCR:	Transkribe Ultra Korunmuş Bölge
TÜBAP:	Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
UCR:	Ultraconserved Region (Ultra Korunmuş Bölge)
UHD:	Uluslararası Hipertansiyon Derneği
USG:	Ultrasonografi
UTR:	Untranslated Region (Translasyona Uğramayan Bölge)
ÜAA:	Üriner Albümin Atılımı
VDKH:	Vasküler Düz Kas Hücreleri
VKİ:	Vücut Kitle İndeksi
XPO5:	Exportin-5

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Hipertansiyon ile ilişkili hedef organ hasarı (Kućmierz vd., 2021).	8
Şekil 2. 2. Anjiyotensin II tip 1 ve tip 2 reseptör aktivasyonunun biyolojik etkileri (Kućmierz vd., 2021).	11
Şekil 2. 3. Matriks metalloproteinazların hipertansif organ hasarındaki rolü (Kućmierz vd., 2021).	15
Şekil 2. 4. Kan basıncının klinikte, evde ve ambulatuvar takibi yolu ile beyaz önlük hipertansiyonunun ve maskeli hipertansiyonun değerlendirilmesi (Staessen vd., 2003). ..	21
Şekil 2. 5. Hipertansiyon gelişiminde genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim (Carretero & Oparil, 2000).	24
Şekil 2. 6. non-codingRNA'lar için paradigmlar (Santosh vd., 2015).	38
Şekil 2. 7. RNA'ların sınıflandırması (Santosh vd., 2015).	39
Şekil 2. 8. mikroRNA'ların biyogenezi (Lekka & Hall, 2018).	44
Şekil 2. 9. Eksozom yapısı (Wang vd., 2019).	48
Şekil 2. 10. Eksozomların biyogenezi (Nguyen vd., 2021).	50
Şekil 2. 11. mikroRNA içeren eksozomların oluşumu, salınımı ve alımının genel mekanizması (Das & Halushka, 2015).	52
Şekil 2. 12. Kardiyomiyosit eksozomları (Henning, 2021).	59
Şekil 2. 13. Eksozomal mikroRNA'ların hipertansiyon patogenezindeki rolü (Tan vd., 2021).	62
Şekil 2. 14. (A) Schmittgen ve arkadaşları (Schmittgen vd., 2004) ve (B) Chen ve arkadaşları (Chen vd., 2005) tarafından geliştirilen qPCR yöntemlerine genel bakış (Forero vd., 2019).	70

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı eşik değerleri (Staessen vd., 2003).....	19
Çizelge 3. 1. Çalışmaya Dahil Edilecek Örneklem Grubu İçin Kabul ve Dışlama Kriterleri	74
Çizelge 3. 2. Konsantrasyon ve Spektrum Değerleri	77
Çizelge 3. 3. Reverse Transkripsiyon Reaksiyonunun Bileşenleri ve Hacimleri.....	78
Çizelge 3. 4. Reverse Transkripsiyon PCR Protokolü	78
Çizelge 3. 5. RT-qPCR reaksiyonunun bileşenleri ve hacimleri.....	79
Çizelge 3. 6. RT-qPCR protokolü	79
Çizelge 3. 7. $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ Değerleri	80
Çizelge 4. 1. Olgu ve kontrol gruplarına ait demografik özelliklerin karşılaştırılması.....	82
Çizelge 4. 2. Ekspresyon analizi yapılan ekzosomal miR-21-5p, ekzosomal miR-155-5p ve ekzosomal miR-1296-5p'nin olgu ve kontrol grupları arasında ekspresyon değerlerine göre istatistiksel karşılaştırması.....	83
Çizelge 4. 3. Eksozomal miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ekspresyon seviyelerinin; gruplar, cinsiyet, sigara, alkol ve aile öyküsü parametreleri ile ilişkisi.....	84
Çizelge 4. 4. Örneklem grubuna ait parametreler ile eksozomal miRNA ekspresyon seviyeleri arasında gözlenen korelasyon ilişkisi.....	85
Çizelge 4. 5. Eksozomal miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ile değişken olmayan sabit değer, gruplar, yaş, VKİ, SKB, DKB, LDL, total kolesterol, cinsiyet, sigara – alkol kullanımı ve aile öyküsü arasındaki korelasyon ilişkisi	86
Çizelge 5. 1. Literatürde çeşitli hastalıklar için miRNA ekspresyon düzeylerinin ve terapötik hedef potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılan yöntemler ve sonuçları	95

EKLER DİZİNİ

Ek-1

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu 111

Ek-2

Etik Kurul Onay Formu 115



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), dünya çapında yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır (Nourae & Mowla, 2015). Tanısal ve terapötik gelişmelere rağmen günümüzde halen küresel olarak önde gelen ölüm nedeni olmaya devam etmektedir (Cao vd., 2016).

Hipertansiyon (HT), kan basıncının (KB) sürekli olarak yüksek seyretmesinden kaynaklanan bir hastalık olmak ile birlikte kardiyovasküler (KV) sistemde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açmaktadır (Altıntaş, Onur & Yılmaz, 2022; Bátkai & Thum, 2012). HT dünya genelinde yetişkin nüfusun yaklaşık %25'ini etkilemekte ve bu etkinin önümüzdeki yıllarda yaklaşık %60 oranında artacağı tahmin edilmektedir (Altıntaş vd., 2022). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de HT, yaygın bir halk sağlığı sorunu olarak öne çıkmaktadır.

HT vakalarının yaklaşık % 90-95'i belirgin bir tıbbi neden olmaksızın meydana gelen ve Esansiyel Hipertansiyon (EH) olarak tanımlanan HT türüne sahiptir (Bátkai & Thum, 2012). EH; genetik, çevre, cinsiyet, etnik köken, diyet, fiziksel aktivite, düşük sosyo-ekonomik durum, stres ve sigara kullanımı gibi çeşitli risk faktörlerinin neden olduğu heterojen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Tan vd., 2021). EH; başta KV bozukluklar olmak üzere serebral ve renal bozukluklar için önemli bir risk faktörüdür (Chaudhary, 2022). Moleküler düzeyde EH gelişiminin birçok yönü ise halen

bilinmemektedir (Bátkai & Thum, 2012). Ancak günümüzde giderek daha fazla sayıda elde edilen kanıtlar doğrultusunda, EH patogenezinin ve komplikasyonlarının birçok genin anormal ekspresyonu ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır (Li, Wei & Wang, 2018).

EH, erken tanı konduğu takdirde kontrol altına alınabilmekte ve vücutta bu hastalığa bağlı olarak meydana gelebilecek diğer komplikasyonlar önlenabilmektedir. Son derece yaygın bir hastalık olmak ile birlikte tanı koymada geç kalındığında ve yeterli tedavi edilemediğinde ciddi organ hasarına sebep olabilmektedir. EH’de tanı, genellikle KB ölçümünün takibi ile konmaktadır. Ancak bu yöntemde çeşitli faktörlere bağlı olarak yanlışlıklar veya değişkenlikler meydana gelebileceğinden; bu yöntemle kıyasla daha güvenilir tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Son yıllarda kodlamayan RNA'ların (non-coding RNA / ncRNA) transkripsiyon düzenlemesinde kilit oyuncular olduğu anlaşılmıştır. ncRNA’ların bir alt sınıfı olan mikroRNA’lar (miRNA); yaklaşık 22 ila 25 nükleotid uzunluğunda olup gen ekspresyonunu düzenleyerek birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Cao vd., 2016; Peters vd., 2020). Hücre proliferasyonu, farklılaşması, metabolizması, apoptozu, gelişmesi ve yaşlanmasının yanı sıra kanser, KHV, nörolojik bozukluklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde köklü bir rolü olan ve evrim sırasında yüksek oranda korunmuş olan miRNA’ların fonksiyonel düzensizliği; çeşitli insan hastalıkları ile ilişkilendirilmekte ve işlevleri de transkripsiyonel ekspresyon seviyelerine dayanmaktadır (de Lucia vd., 2017; Jia & Wei, 2020). Örneğin HT, dolaşımdaki miRNA'ların anomalileri ile ilişkilendirilmiştir (Peters vd., 2020).

Eksozomlar; çeşitli biyoaktif lipidler, reseptörler, transkripsiyon faktörleri, yüzey proteinleri, DNA ve ncRNA'lar bakımından zenginleştirilmiş hücre dışı çift katmanlı membran nanoveziküllerinin bir alt grubu olmak ile birlikte çok sayıda vezikül ve hücre zarının füzyonundan sonra hücre dışı ortama salınan, çapı 40 ila 100 nanometre (nm) olan, lipid çift katmanlı zar yapısına sahip küçük veziküllerdir (Nguyen, Azam & Wang, 2021; Zhang & Huang, 2021). Çok sayıda kanıt; endotel hücrelerin proliferasyonu, apoptoz, yaşlanma, anjiyogenez ve inflamasyonun düzenlenmesinde eksozomal miRNA'ların rol oynadığını desteklemektedir (Ni, Lin, Zhan & Liu, 2020).

Normal biyolojik süreçler, patolojik süreçler veya terapötik bir işleme karşı farmakolojik cevabın göstergesi olabilen, objektif olarak ölçülüp değerlendirilmesi

yapılabilen özellikler biyobelirteçler olarak tanımlanmaktadır. Biyobelirteçler, insan vücudu kaynaklı biyolojik sinyallerdir. İdeal biyobelirteç; doğru, duyarlı ve spesifik olmalıdır (Sanz-Rubio vd., 2018). Eksozomal miRNA'lar hastalığın farklı evreleri arasında ayırım yapmaya imkan sağlamak ile birlikte hemen hemen tüm vücut sıvılarında bulunmaktadır (Jiménez-Avalos, Fernández-Macías & González-Palomo, 2021). Serbest miRNA'lar ve eksozomal miRNA'lar karşılaştırıldığında eksozomal miRNA'ların birçok özellik bakımından daha yüksek biyobelirteç potansiyeli taşıdığı görülmektedir.

Biyobelirteç potansiyeli açısından değerlendirilen miRNA sayısının en az üç çeşit olması, miRNA imzası olarak adlandırılmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde miRNA imzaları, tek başına incelenen miRNA'lardan daha güvenilir biyobelirteçler gibi görünmektedir. Bunun sebebi miRNA imzasının, hastalık fenotiplerinin karmaşıklığını yeterince yansıtabildiği düşüncesidir (Backes, Meese & Keller, 2016). Bu tez çalışmasında da EH etiyolojisinde, prognozunda ve tedavisinde biyobelirteç potansiyeli taşıdığı düşünülen üç adet eksozomal miRNA seçilmiştir. Seçilen eksozomal miRNA'lar; eksozomal mikroRNA-21-5p (miR-21-5p), eksozomal mikroRNA-155-5p (miR-155-5p), ve eksozomal mikroRNA-1296-5p'dir (miR-1296-5p). Bu eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerini saptamak amacıyla kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction / RT-qPCR) yöntemi kullanılarak ekspresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasının birincil amacı, EH için bir tanı aracı olarak eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerini saptamaktır. Aynı zamanda bu biyobelirteçler aracılığı ile hastalığı ilerleyen zamanlarda geliştirme potansiyeli olan bireyleri tespit edebilmek ve böylece EH için risk oluşturan faktörler hakkında söz konusu bireylerin bilinçlenmesini sağlayarak hastalığın gelişmeden önlenmesi hedeflenmektedir. Ayrıca bu eksozomal miRNA'ların gelecekte hedefli tedavi amacına hizmet edebileceği de düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

KV sistem, kalp ve kan damarlarını kapsamaktadır. KV sistemde ortaya çıkan çeşitli sorunlar sonucunda, kalp hastalığı olarak da bilinen KVH meydana gelmektedir. KVH; koroner kalp hastalığı (KKH) veya koroner arter hastalığı (KAH), serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı (PAH) ve aort ateroskleroza (AS) olmak üzere dört temel oluşumu kapsamaktadır. KVH, doğrudan farklı etiyolojilerden kaynaklanabilmektedir. Bunun yanı sıra AS gelişimiyle ilişkili risk faktörlerinin ele alınması, KVH patofizyolojisinde ortak bir payda sağlamaktadır (Lopez, Ballard & Jan, 2022).

KVH, 1975'ten bu yana her 4 ölümden 1'i ile ilişkilendirilmiş olup Amerika Birleşik Devletleri'nde önde gelen iki ölüm nedeni arasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre KVH, 2015 yılında tahmini 17,7 milyon ölümlle küresel olarak ilk sırada yer alan ölüm nedenidir. KVH'nin maddi yükü, yılda 237 milyar dolar olarak hesaplanmakta ve 2035 yılına kadar 368 milyar dolara çıkacağı öngörülen dolaylı maliyetler sonucunda en maliyetli hastalık olarak kabul edilmektedir (Lopez vd., 2022).

KVH prevalansı yaşamın her on yılında önemli ölçüde artmaktadır. Son birkaç on yılda KVH oranlarındaki önemli ve istikrarlı artış; AS gelişimi, fiziksel hareketsizlik, yüksek kalorili diyet, doymuş yağ ve şeker alımının yanı sıra KVH'ye sahip kişilerde oldukça yaygın olan metabolik sendrom, diabetes mellitus ve HT gibi diğer metabolik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Bahsi geçen risk faktörlerinin yanında aile öyküsü, yaş ve cinsiyet gibi değiştirilemeyen faktörlerin farklı etkileri de mevcuttur (Lopez vd., 2022).

Framingham Kalp Çalışması (The Framingham Heart Study) (Fox vd., 2008) ve Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması (Third National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES III) (Vasan vd., 2005) gibi büyük kohort çalışmalarında; dislipidemi, HT, sigara kullanımı ve glukoz intoleransı arasında güçlü bir ilişki ve öngörücü değerler gözlenmiştir. Çalışma kapsamındaki KKH vakalarının %60 ila %90'ı, bahsi geçen risk faktörlerinden en az birine sahip bireylerde meydana gelmiştir (Lopez vd., 2022).

KV sisteme yönelik olan ancak bununla sınırlı olmayan kapsamlı klinik öykü ve fizik muayene KVH'nin tanısı için ayırt edici özellikler olarak tanımlanmaktadır. Yirmi yaşından itibaren tüm hastalar, KVH risk faktörleri ve lipid ölçümü açısından değerlendirilmelidir. Diyabet, HT, hiperlipideminin yanı sıra sigara kullanan ve obeziteye sahip hastalar gibi KVH açısından daha yüksek risk taşıyan bireyler için ekstra özen gösterilmeli ve bu bireylerin tıbbi durumlarını kontrol altına almak, sigaradan uzak durmayı önermek, kilo vermeleri için uygun önlemler almak ve aktif bir yaşam tarzını teşvik etmek risk faktörlerinin değiştirilmesi konusunda son derece önem arz etmektedir (Lopez vd., 2022).

Klinik şüpheyile konulan tanının yanı sıra, ilişkili risk faktörü tespit edilen kişiler hedef alınarak öncelikli olarak önleyici tedbirlerin uygulanması önerilmektedir. Bazı uzmanlar, KVH riskinin her 4 ila 6 yılda bir yeniden değerlendirilmesini önermektedir (Lopez vd., 2022).

2.2. Arteriyel Hipertansiyon

Yüksek KB, sigara kullanımı, diabetes mellitus ve lipid anormallikleri; KVH için değiştirilebilir başlıca risk faktörleri olarak sayılabilmektedir. Yüksek KB, KVH ile ilişkili risk faktörleri arasında nedensellik açısından en güçlü kanıtlarla ilişkilendirilmektedir (Fuchs & Whelton, 2020). Aort içindeki sistolik kan basıncı (SKB), ventriküler kasılma ile üretilip giden basınç dalgasından ve çevreden gelen basınç dalgası yansımasından kaynaklanmaktadır. Yansıyan dalga, diyastolik dolguyu artırmak için diyastol sırasında kalbe doğru dönmelidir. Ancak bu dalga kalp döngüsü sırasında olması gerekenden daha erken döner ise giden basınç dalgasını yükseltmekte ve merkezi aort basıncında bir artışa yol açmaktadır. Basınç dalgası yansımasının zamanlaması ve

büyüklüğü; aortun sertliği, yansıma bölgelerinin kalpten uzaklığı ve kalp atış hızı gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Messerli, Williams & Ritz, 2007). KB’de ortaya çıkan herhangi bir değişiklik; başlangıçta hücre içi sinyalizasyon, hücre-doku seviyelerinde metabolik ve hormonal düzenleme şeklinde meydana gelmektedir. Bu sürecin devamında tüm vücut ile birlikte sistemik geri bildirim döngülerini kapsayan ve kendi kendini organize eden homeostatik mekanizmalar devreye girmektedir (Staessen, Wang, Bianchi & Birkenhäger, 2003).

19. yüzyılın sonunda Osler (Osler, 1892), KB’yi invaziv olmayan teknik ile ölçmenin pratik bir yolu olmadığından “The Principles and Practice of Medicine (Tıbbın İlkeleri ve Uygulamaları)” adlı ders kitabında yüksek KB risklerinden bahsetmemiştir. KB ölçümü için invaziv olmayan yöntemlerin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılmasından sonra uzmanlar, yüksek KB’nin KVH başta olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabileceği sonucuna varmışlardır. 1913 yılında Janeway (Janeway, 1913), 7872 hasta üzerinde yaptığı çalışma ile ortalama KB’nin 160 mmHg üzerinde olmasının patolojik sonuçlara sebep olduğunu göstermiştir (Fuchs & Whelton, 2020).

Yüksek KB; yüksek kalp debisi, yüksek periferik vasküler direnç veya her ikisinin kombinasyonuna bağlı olmaktadır. Bu mekanizmaların her biri; hemodinamik, nöral, humoral ve renal süreçler tarafından düzenlenmek ile birlikte bu mekanizmaların yüksek KB’ye katkıları bireyden bireye değişmektedir (Jordan, Kurschat & Reuter, 2018). Vasküler yaşlanma, KB ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. KB’de yaşa bağlı artışların önlenmesi, genellikle yaşlanmaya bağlı olarak gelişen vasküler sonuçları önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahip olmaktadır (Fuchs & Whelton, 2020).

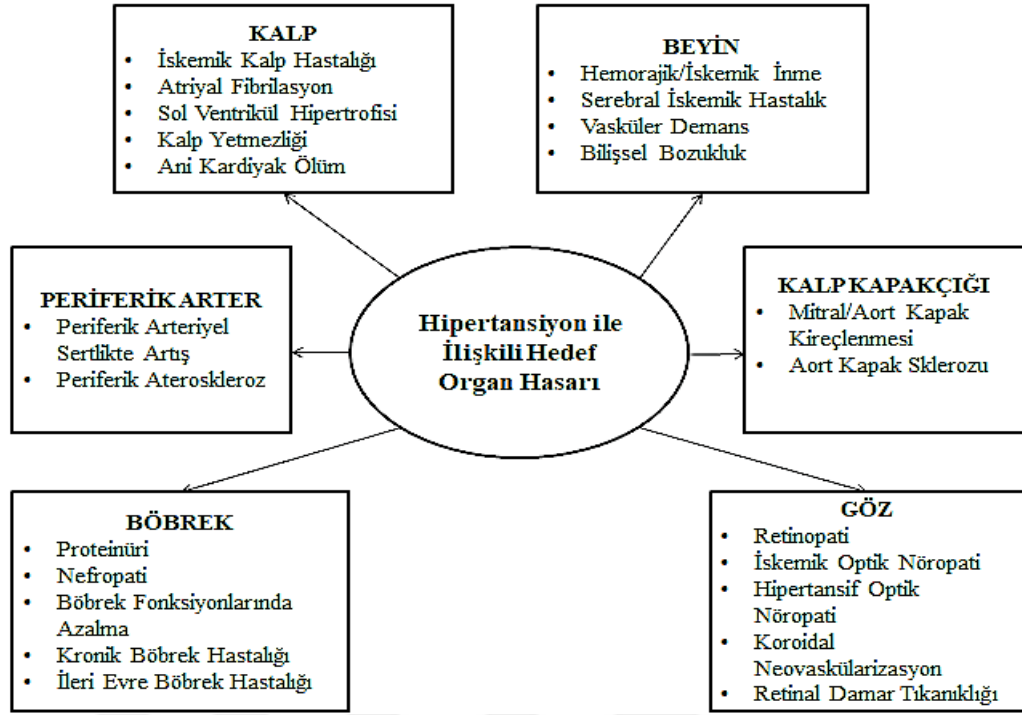
Yüksek KB’nin komplikasyonları kısa vadeli ve uzun vadeli olarak sınıflandırılabilir. Yüksek KB; korunmuş ejeksiyon fraksiyonu olan ve olmayan kalp yetmezliği (KY), atriyal fibrilasyon (AF), kalp kapak hastalığı, PAH ve aort sendromları, kronik böbrek hastalığı ve son evre böbrek hastalığı, bunama ve Alzheimer hastalığı gibi uzun vadeli sonuçların önde gelen nedeni olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenlerin yanı sıra yüksek KB; diabetes mellitus, erektil disfonksiyon ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon nedenselliği ile ilişkilendirilmektedir (Fuchs & Whelton, 2020).

DSÖ, inme vakalarının %54’ünün ve iskemik kalp hastalığı vakalarının %47’sinin yüksek KB’nin doğrudan sonucu olduğunu tahmin etmektedir. Bu nedenle yüksek KB,

KV morbidite ve mortalite için ana risk faktörleri arasında yer almaktadır. Bu duruma sebep olan başlıca faktörler, gerekli tedavinin uygun şekilde verilmemesi ve hastanın reçete edilen ilaçları düzenli olarak kullanmaması şeklinde sıralanabilmektedir (Jordan vd., 2018).

Arteriyel hipertansiyon (AH), KB'nin yükseldiği kronik bir tıbbi durum olarak tanımlanmaktadır. AH, KB değerlerine bağlı olarak; birinci evre HT, ikinci evre HT ve üçüncü evre HT olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir (Kućmierz, Frąk, Młynarska, Franczyk, & Rysz, 2021). KVH'nin gelişimi için önemli ancak önlenemez bir risk faktörü olan AH, hemodinamik bir bozukluk olarak ifade edilmektedir (Kućmierz vd., 2021; Messerli vd., 2007; Silva, Sousa, Caldeira, Abreu, Pinto, 2022). Günümüzde yüksek KB ile KV morbidite ve mortalite arasındaki epidemiyolojik ilişki iyi bilinmesine ve anti-hipertansif tedaviyi doğrulamak için yeterli kanıt bulunmasına rağmen KB genellikle yeterince kontrol altına alınamamaktadır (Jordan vd., 2018).

Yüksek KB, böbrek hastalıklarının yanı sıra iskemik kalp hastalıkları, AS ve inme gibi hedef organ hasarı (HOH) patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.1). HOH, kronik HT ile ilişkili vücut organ sistemlerinde vasküler hasar olarak meydana gelen bir durumu ifade etmektedir. AH karakteristik olarak vasküler disfonksiyon, KV yeniden şekillenme, renal disfonksiyon ve sempatik sinir sisteminin (SSS) uyarılması ile ilişkilendirilmektedir. Hipertansif hasarın başlıca hedef organları; kalp, böbrek, beyin, retina ve arteriyel kan damarları olarak sayılabilmektedir. Kontrolsüz ve tedavi edilmemiş AH, bahsi geçen organlardaki hasarları hızlandırmakta ve devamında organ yetmezliklerine neden olabilmektedir. Bu organlarda meydana gelen hasarlar; KKH, bilişsel bozukluk, retinopati veya optik nöropati olarak ortaya çıkabilmektedir (Kućmierz vd., 2021).



Şekil 2. 1. Hipertansiyon ile ilişkili hedef organ hasarı (Kućmierz vd., 2021).

HT yetişkin nüfusun %10-20'sini etkilemektedir. Bununla birlikte dünya genelindeki tüm ölümlerin %5.8'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Kućmierz vd., 2021; Pardell, Armario, Hernández 1998). Küresel sağlık harcamalarının %10'u doğrudan dünya genelinde bir milyardan fazla yetişkini etkileyen HT ve komplikasyonları ile ilgilidir. HT farkındalığı, toplumdan topluma önemli ölçüde farklılık göstermekte ve yüksek gelirli ülkelerde, düşük veya orta gelirli ülkelere kıyasla farkındalığın daha yaygın olduğu bilinmektedir (Sırasıyla %67 ve %38). HT farkındalığının, tedavisinin ve kontrol oranlarındaki ilerlemenin özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde son 20 yılda duraklama noktasına geldiği bilinmektedir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde HT tedavisi, çeşitli nedenler ile geri kalmıştır. Buna karşın dünya çapında HT'nin neden olduğu hastalık yükü göz önüne alındığında; teşhisinin, yönetiminin ve kontrolünün iyileştirilmesi yüksek önceliği hak etmektedir. Hastalık yükünün yanı sıra HT'nin asemptomatik doğası, rutin KB taramasının önemini gözler önüne sermektedir. Bu doğrultuda Dünya Kalp Federasyonu (DKF), HT için sağlık sistemi politikaları ve klinik uygulamalar hakkında tavsiyelerin yer aldığı bir yol haritası geliştirmiştir (Jeemon vd., 2021; Silva vd., 2022).

DKF'ye göre, HT taraması 18 yaşından itibaren yapılmalı ve kaynakların mevcudiyetine bağlı olarak her 2 yılda bir tekrarlanmalıdır. Bu konu kapsamında yayınlanmış kılavuzlarda, KB'ye bağlı olarak 1 ila 5 yıl arasında tekrar ölçüm yapılması önerilmektedir (Mancia vd., 2007). HT için düzenli tarama yapılması ve sık sık yapılan KB ölçümleri, farkındalığı artırmak ile birlikte erken tanı ve uygun tedavinin zamanında başlatılabilmesi adına yüksek riskli bireylerde özellikle önem arz etmektedir (Silva vd., 2022).

Uluslararası Hipertansiyon Derneği (UHD) tarafından yürütülen ve öncelikli amaçları; toplum düzeyinde KB ölçümünün önemi konusunda farkındalık yaratmak ve bu süreçte tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi edilen HT'yi tespit etmek olan Mayıs Ölçüm Ayı (MÖA) girişimi; küresel olarak senkronize yürütülen bir KB tarama kampanyasıdır. Aynı zamanda bu kampanya Dünya Hipertansiyon Birliği (DHB) ve DSÖ tarafından desteklenmektedir. 2019'da yürütülen MÖA kampanyasında rastlanan en çarpıcı bulgulardan biri, taramaya katılanların yaklaşık üçte birinin daha önce hiç KB ölçümü yaptırmamış olmasıdır (Dzudie vd., 2021). Bahsi geçen kampanya gibi toplumlara dayalı tarama programlarının HT'nin tanı ve kontrol oranını artırdığı bilinmektedir (Silva vd., 2022). Bu bağlamda benzer kampanyaların yürütülmesinin ve daha geniş popülasyonlara ulaşabilmenin oldukça önemli olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

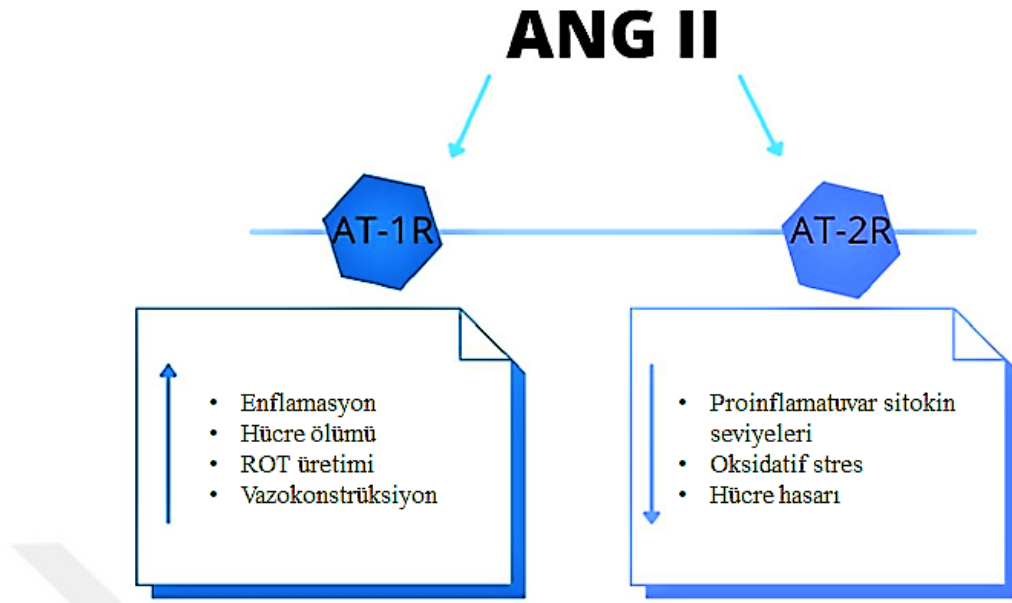
2.2.1. Arteriyel Hipertansiyonun Patofizyolojisi

AH patofizyolojisi; renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) uygunsuz aktivasyonu, oksidatif stres (OS) ve inflamasyon dahil olmak üzere çeşitli faktörleri kapsamaktadır (Kućmierz vd., 2021). Uzun süre devam eden HT'nin en önemli komplikasyonları trombotiktir. Virchow'a göre trombüs oluşumunu kolaylaştıran üç bileşen; damar duvarındaki hasar, hiperkoagülabilité ve anormal kan akışı olarak sıralanabilmektedir (Lip & Blann, 2000). Tromboembolik olayların gerçekleşmesi Virchow'un tanımladığı bileşenlerin tümünün meydana gelmesine bağlı olmaktadır. Buna ek olarak HT, endotel hasarı veya disfonksiyonu ve hiperkoagüle durum ile ilişkilendirilmektedir (Messerli vd., 2007).

RAAS, KB ve sıvı homeostazı için düzenleyici bir sistem olarak tanımlanmaktadır. RAAS düzensizliği, HT patofizyolojisinde ve HOH oluşumunda kritik

bir rol oynamaktadır. RAAS'nin aşırı aktivasyonu, bağışıklık sisteminin aktivasyonu ile enflamasyonunu teşvik etmektedir. Bu durumun yanı sıra intratübüler sodyum seviyelerinde azalma ve sempatik aktivasyon, böbrek tarafından inaktif renin sentezi ile birlikte renin salınımını da etkilemektedir. Böylece kan dolaşımında renin aktive olmakta ve anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e (Ang I) dönüştürmektedir. Sonrasında anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) sayesinde Ang I, RAAS'nin ana bileşeni olan Anjiyotensin II'ye (Ang II) dönüştürülmektedir. Ang II seviyesindeki artış; vasküler ve renal hasara, sodyum retansiyonuna ve endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Bu mekanizmalar sonucunda RAAS, arteriyel KB'nin yükselmesine neden olmaktadır. Aynı zamanda RAAS, renin inhibitörleri tarafından baskılanabilmektedir. Bu özelliği sayesinde hipertansif tedavi ve HOH'nin şiddetinin azaltılabilemesi açısından önemli bir tedavi yöntemi olma potansiyeli taşımaktadır. Ayrıca renin inhibitörlerinin böbrek veya göz hasarını önlemeye yardımcı olduğu gösterilmiştir (Kućmierz vd., 2021; Mu & Luft, 2006).

Ang II, ana pro-hipertansif hormon olup bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu yoluyla HOH'ye aracılık etmektedir. Aynı zamanda Ang II, endotel disfonksiyonuna neden olabilmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda anjiyotensinojen genindeki değişiklik ile HT arasında bir ilişki olduğu söylenebilmektedir. Ayrıca Ang II, anjiyotensin II reseptörü tip 1 (AT1R) yolu üzerinden proinflamatuvar moleküllerin üretimini uyarmakta ve reaktif oksijen türünün (ROT) miktarını artırmaktadır (Şekil 2.2). Bu sinyal iletimleri; inme, retinopati ve KAH dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar açısından risk oluşumuna sebep olabilmektedir (Kućmierz vd., 2021). KV sistemde Ang II; vazokonstriksiyon, sodyum-su retansiyonu, inflamasyon, hipertrofi ve fibrozise yol açmaktadır. Bu bağlamda KV ve renal hastalıkların gelişimi veya ilerlemesi ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca sodyum kısıtlamasına yanıt olarak RAAS aktivitesinin modülasyonunun azalması ve yüksek sodyum içeren diyetle bağlı olarak aldosteronun artması, hipertansif hastaları anormal kardiyak yeniden şekillenmeye yatkın hale getirebilmektedir (Forrester vd., 2018). Öte yandan Ang (1-7), KV koruyucu etkilere aracılık etmektedir. Ayrıca, bu peptid serebral hasarı hafifletmek ile birlikte iskemik inme sırasında serebroprotektif bir etkiye sahip olmaktadır (Kućmierz vd., 2021).



Şekil 2. 2. Anjiyotensin II tip 1 ve tip 2 reseptör aktivasyonunun biyolojik etkileri (Kućmierz vd., 2021).

RAAS'nin bir bileşeni olan aldosteron, insan vücudundaki sıvı hacmi ve elektrolit seviyelerinin dengesini korumaktadır. Ancak aldosteronun aşırı ekspresyonu, miyokardiyal ve vasküler fibrozun yanı sıra kronik böbrek hastalığının ilerlemesini indükleyebilmektedir. Kallikrein-kinin sistemi (KKS) ise RAAS'ye karşı düzenleyici bir sistem olarak çalışmaktadır. KKS'nin HT'de ve HT patofizyolojisinde önemli bir rol oynamadığı gösterilmiştir. Buna karşın Hamid ve arkadaşları (Hamid, Rhaleb, Kassem & Rhaleb, 2020) tarafından yapılan çalışmada KKS aracılığı ile anjiyotensin dönüştürücü enzim 1'in (ACE1) antihipertansif etkisinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca böbrek, kalp ve damar sistemi üzerinde faydalı bir etkiye sahip olup HOH'nin ilerlemesini yavaşlatabilmektedir (Kućmierz vd., 2021).

Diğer bir önemli mekanizma, oksidan/antioksidan oranındaki değişikliklerle karakterize olan ve OS yoluyla gelişen HOH olarak tanımlanmaktadır. Meydana gelen bu değişiklikler, oksidasyon-redüksiyon sinyalizasyonunun bozulmasına yol açmaktadır. OS çoğunlukla aşırı miktarda ROT'nin neden olduğu bir süreçtir. Aynı zamanda ROT, düşük dereceli veya kalıcı enflamasyon ve Ang II aktivasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmektedir. RAAS, hatta Ang II, doğrudan veya ROT miktarını artırarak böbrek hücresi proliferasyonunu artırabilmektedir. KV ROT kaynakları arasında;

fagositlerin peroksizomda üretimi, fagositik olmayan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar (Nox), mitokondriyal oksidazlar, ksantin oksidaz, endoplazmik retiküler oksidazlar ve bağlanmamış nitrik oksit sentaz (NOS) sayılabilmektedir. ROT, mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) ailesini aktive edebilmektedir. Bunlar hem vasküler hem de kardiyak hücrelerin proliferasyonunu ve fonksiyonunu kontrol etmektedir. İnterlökin-17 (IL-17), KB'yi artırarak endotelial nitrik oksit üretimini inhibe etmektedir. Bunun sonucunda ROT oluşumunu artırarak ve fibrozisi teşvik etmektedir. IL-17 seviyesi düşürüldüğü takdirde KB normal değerine dönebilmekte ve miyokardiyal dokudaki enflamatuvar yanıt azalabilmektedir. Aktive olmuş bağışıklık hücreleri, Nox'a bağlı mekanizmalar aracılığıyla ROT üretmekte ve böylece sitokin üretimi sağlanmaktadır (Kućmierz vd., 2021).

İmmün hücrelerin damar duvarına, böbreğe ve kalbe sızması; HT'de doku hasarının bir nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca aldosteronun da T hücresine bağlı olmayan mekanizmalar aracılığıyla ROT oluşumunu düzenlediği ve bunun da hipertansif HOH'de OS ile RAAS arasında bir korelasyona neden olduğu bilinmektedir (Bhatia, Elmarakby, El-Remessey, Sullivan, 2012; Kućmierz vd., 2021).

Reaktif nitrojen türleri (RNT) ve reaktif klor türleri (RKT) de OS'de rol oynayan diğer moleküller olarak tanımlanmaktadır. ROT'nin aracılık ettiği proteinlerin post-translasyonel modifikasyonları ve anormal sinyalizasyonları nedeniyle OS, hücre ve doku hasarına yol açmaktadır. OS tarafından indüklenen diğer moleküler durumlar, hücre sinyalini düzensizleştirmenin yanı sıra inflamasyon, proliferasyon, apoptoz, migrasyon ve fibroze neden olmaktadır. Bahsi geçen süreçler, tirozin kinazlar ve reseptör tirozin kinazlar üzerindeki etkileri dolayısıyla vasküler fonksiyonda istenmeyen değişiklikler başta olmak üzere; KV yeniden şekillenme, böbreklerde işlev bozukluğu, SSS'nin aşırı aktivitesi ve bağışıklık sisteminin aktivasyonu gibi durumlara yol açmaktadır. Günümüze dek yapılan çalışmalar; OS, RAAS ve dolaşımdaki immün hücrelerin aktivasyonu arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer taraftan HT'de; inflamasyon, ROT ve KB yükselmesi arasındaki korelasyon hipertansif HOH gelişiminde önem arz etmektedir (Kućmierz vd., 2021).

Günümüzde düşük dereceli veya kalıcı enflamasyonun, AH'nin gelişimi ve devamlılığı açısından kilit bir rolü olduğu bilinmektedir. Bağışıklık sisteminin bileşenleri

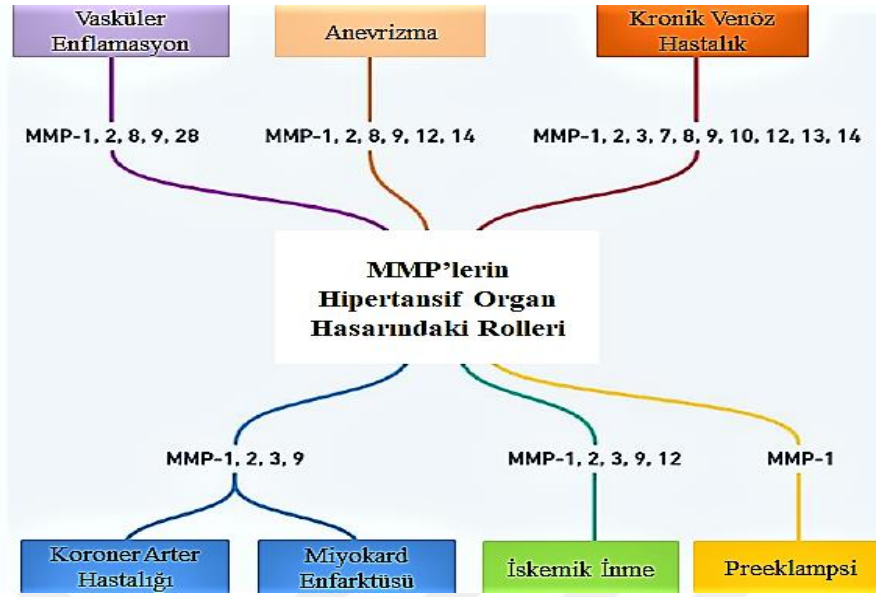
Ang II, endotelin-1 veya prostaglandinler gibi vazoaaktif moleküller üretmektedir. Bu moleküller, hipertansif mediyatörler ve HOH mediyatörleri olarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda bu moleküllerin monositlerin ve makrofajların vazokonstriksiyonu ve sodyum retansiyonunu artırdığı da gösterilmiştir. Ayrıca, antijen sunan hücreler sınıfına dahil olan dendritik hücreler ve B lenfositler, T hücre fonksiyonunu modüle ederek KB artışını uyarabilmektedir. Bu bulgular ışığında enflamatuvar işlevlerin bozulması sonucunda, KB'den bağımsız mekanizmalar yoluyla HT kaynaklı HOH'nin sınırlanabileceği olasılığı düşünülebilmektedir (Kućmierz vd., 2021).

HT'de çeşitli araçlar, NLR ailesi pyrin domain içeren 3 (NLRP3) inflamazom oluşumuna ve aktivasyonuna yol açmaktadır. NLRP3, kaspaz-1'in aktivasyonu ve piroptoz adı verilen bir tür hücre ölümünü teşvik etmek ile birlikte inflamasyon ve HOH'nin önemli bir modülatörü olarak tanımlanmaktadır. NLRP3'ün azalması KB'yi düşürmekte, vasküler düz kas hücrelerinin (VDKH) inflamasyonunu engellemekte ve vasküler yeniden şekillenmenin şiddetini azaltmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda NLRP3'ün, HT ve vasküler yeniden şekillenme için yeni bir hedef olabileceği düşünülmektedir (Kućmierz vd., 2021).

HT ayrıca endotel hasarı, disfonksiyonu ve hiperkoagüle edilebilir bir durum ile ilişkilendirilmiştir. Bu protrombotik durumun, kronik düşük dereceli inflamasyonun bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Kronik kayma gerilimi, vasküler endotelin yeniden şekillenmesine yol açmakta ve onu bir antikoagülandan prokoagülan bir yüzeye dönüştürebilmektedir. Bu protrombotik durum, kronik düşük dereceli inflamasyonun bir sonucu olabilmektedir. Endotel disfonksiyonuna yol açan mekanizmalar çok faktörlü olarak tanımlanmak ile birlikte vazodilatör ajanların aktivitesinin azalmasını ve vazokonstriktör ajan için artan aktiviteyi içermektedir. Genel olarak fibrinolitik aktivite, doku plazminojen aktivatörü ile plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1 (SERPINE1) arasındaki denge ile belirlenmektedir. Endotel fonksiyonu ile ilgili olarak, RAAS'nin ve KKS'nin artan aktivitesi, sırasıyla damar daralması ve damar genişlemesi ile sonuçlanan zıt etkilere sahip olmaktadır. Buna karşılık pıhtılaşma açısından, RAAS'nin ve KKS'nin artan aktivitesi olumsuz bir etkiye sahip olmaktadır. Bu etki sonucunda hiperkoagüle edilebilir bir durum meydana gelmektedir. Bu nedenle HT yalnızca hiper pıhtılaşabilir bir duruma sebep olmakla kalmamakta; aynı zamanda sol ventrikül hipertrofisine (SVH), ventriküler ve atriyal aritmilere ve bozulmuş koroner rezervlere yol açarak hassas

durumdaki bir hasta için tüm kriterleri karşılamaktadır. SVH, hipertansif kalp hastalığının bir özelliği olmak ile birlikte olumsuz bir prognozu düşündürmektedir. Bu duruma bağlı olarak SVH elektrokardiyografide (EKG) gerilemesi, önemli klinik faydanın göstergesi olarak kabul edilmekte ve tedavide önemli bir amaç olarak karşımıza çıkmaktadır (Messerli vd., 2007).

Matriks metalloproteinazlar (MMP), çinko bağımlı endopeptidazlara ait olup fibroblastlar, VDKH ve lökositler tarafından salgılanabilen önemli hücre dışı enzimler olarak tanımlanmaktadır. MMP'lerin işlevinde meydana gelen anormallik; HT, AS, anevrizma, kronik venöz hastalık ve preeklampsi gibi diğer KVH'ler ile de ilişkilendirilebilmektedir (Şekil 2.3) (Kućmierz vd., 2021). MMP aktivitesi, vasküler yeniden şekillenmeye yol açtığından ekstraselüler matriks (EM) ve büyük safen veninde (BSV) AH ile ilişkili olabilecek değişikliklere neden olabilmektedir. Öte yandan vasküler yeniden şekillenme durumunun; AS, inme, kalp ve böbrek yetmezliği gibi KV komplikasyonların gelişiminde ilk adım olabileceği düşünülmektedir (Bisogni, Cerasari, Pucci & Vaudo, 2020). AH patogenezinde yer alan en önemli faktörlerden biri BSV işlevinde değişiklik meydana getiren; hücre göçü, kalsiyum sinyali, kasılması ve proliferasyonunu kapsamaktadır. Proliferasyon, MMP'ler tarafından düzenlenmektedir. Ayrıca MMP'ler EM'nin degradasyonunu ve hücre göçünü denetleyen reseptörlerin işleyişini de düzenlemektedir. Tüm bunlara ek olarak MMP'ler; çeşitli pro-anjiyojenik faktörlerin etkilerine aracılık etmek ile birlikte anjiyogenezin önemli düzenleyicileri olarak tanımlanmaktadır (Kućmierz vd., 2021).



Şekil 2. 3. Matriks metalloproteinazların hipertansif organ hasarındaki rolü (Kućmierz vd., 2021).

Endoplazmik retikulum (ER) hücredeki en büyük organel olarak tanımlanmaktadır. Kalsiyum depolama, protein sentezi ve proteinin taşınmasının yanı sıra lipid ve steroid metabolizması ve bu moleküllerin taşınması ile ilişkilendirilen çoklu alanlardan oluşmaktadır. Endoplazmik retikulum stresi (ERS), ER'nin homeostazının bozulduğu durumu ifade etmektedir. ERS, çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli bir role sahip olup tedavi için potansiyel bir terapötik ajan olabilmektedir. Hücre, dengeyi korumak amacıyla katlanmamış protein tepkisi (KPT) adı verilen adaptif bir sinyal yolunu açmaktadır. Bu sinyal yolunun ana görevi; protein sentezini artırarak yanlış proteinleri uzaklaştırmak ve ER'nin kapasitesini artırarak hücrelerin ERS ile başa çıkmasına yardımcı olmak şeklinde açıklanabilmektedir. HOH gelişimi ERS'nin yukarı regülasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Aynı zamanda ERS, aort sertleşmesi ve endotel disfonksiyonuna sebep olabilmektedir. Bu da, KY gelişme riskini artıran bir durum olarak tanımlanmaktadır (Spitler & Webb, 2014). Yapılan yakın zamanlı çalışmalarda ERS'nin HT gelişiminde kalp veya böbrek gibi temel organlardaki patofizyolojik rolü için çok sayıda kanıt elde edilmiştir. ERS'nin indüksiyonu, VDKH'deki değişikliklerin yanı sıra apoptoz ve fibroze yol açmaktadır. Bunların yanı sıra ERS yanıtının sıçanlarda yükselen KB ile ilişkili olduğuna dair veriler de elde edilmiştir (Kućmierz vd., 2021).

2.2.2. Arteriyel Hipertansiyonun Tanısı

HT'nin teşhisi ve tedavisi, KB'nin doğru ölçümüne bağlı olmaktadır. Oldukça kolay görünen bu prosedür diğer yandan hataya büyük ölçüde müsaittir. KB ölçümü için farklı ekipman ve teknikler kullanılmaktadır. Bu cihazların doğruluğu büyük ölçüde değişmekte ve bu değişkenlik HT teşhisinin doğru şekilde konulabilmesi açısından toplu KB tarama programlarının etkinliğini azaltmaktadır (Jeemon vd., 2021). Bu bağlamda doğru şekilde tarama yapmak ve doğru teşhis koymak için; DSÖ'nün KB ölçüm cihazlarına yönelik belirlemiş olduğu kalite standardı ile uyumlu olan yeterli sayıda kalibre edilmiş ve doğrulanmış cihaza erişim önemli bir gerekliliktir (Silva vd., 2022).

Günümüzde HT için uygulanan tanı yöntemi, 24 saatlik ayaktan KB ölçümü ve otomatik kendi kendine ölçümün uygulanması dışında 100 yıl önce uygulanan prosedürün çok az ötesine geçebilmiştir. Bu bağlamda Kaplan (Kaplan, 1998), muhtemelen en özensiz şekilde gerçekleştirilen en büyük öneme sahip klinik prosedürün KB ölçümü olduğunu savunmuştur (Messerli vd., 2007).

KB ölçümü için kullanılan civalı tansiyon aleti, yüksek doğruluğa sahiptir. Ancak günümüzde bu aletin yerini aneroid, oskültasyon veya osilometrik yarı otomatik cihazlar almıştır. Güvenilir sonuçlar için aneroid manometreler, periyodik olarak bakım ve kalibrasyon gerektirmektedir. Salınlı cihazlarla bilek KB ölçümlerinin güvenilirliği ise sınırlı olmaktadır (Messerli vd., 2007).

HT yönetimini sağlamak amacı ile oluşturulan girişim uygulamalarını güçlendirmek için, ofis dışı KB ölçümlerinin uygulanmasına yönelik etkili ve sürdürülebilir stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Buna ek olarak hastaların ve hekim olmayan sağlık çalışanlarının doğru KB ölçümü konusunda eğitilmesi oldukça önem arz etmektedir (Silva vd., 2022).

Teknolojinin ilerlemesi ile, dijital sağlık ve uzaktan tedavi temelinde hipertansif bakım hizmetlerinin iyileştirilmesi için yeni fırsatlar oluşmaktadır. Bu fırsatlardan biri olan telemonitorizasyon; kendi kendine KB ölçümü yönteminin geliştirilmesi ile hastaların evde KB (EKB) ölçümlerini gerçekleştirip elektronik ortamda klinik bakım ekibine iletmelerine olanak tanımaktadır. Bu verilere göre ilgili klinik ekip; yaşam tarzı değişiklikleri, ilaç ayarlamaları veya randevu planını hastaya geri iletebilmektedir. Hasta ve klinik ekip arasında oluşan bu geri bildirim döngüsü sayesinde, hastanın doğru şekilde

kendine bakabilmesi sağlanmakta, gereksiz doktor ziyaretleri önlenmekte ve HT yönetimi kolaylaştırılabilmektedir. Bu yöntemin en önemli kısıtlılığı, klinik ve toplum arasında güvenli veri paylaşım sistemlerinin mevcudiyeti olmaktadır. Home and Online Management and Evaluation of Blood Pressure (HOME BP) ve HERB Digital Hypertension 1 (HERB-DH1) çalışmaları, dijital uygulamanın SKB'yi 3,4 (HOME BP) / 3,6 (HERB-DH1) mmHg olmak üzere önemli ölçüde azalttığını göstermek ile birlikte yeni teknolojilerin etkinliğini ve sağladığı düşük ek maliyeti de gözler önüne sermektedir (Kario vd., 2021). HT'nin önlenmesini, teşhisini ve kontrolünü iyileştirmek için zorlukların ve çözümlerin belirlenmesi bölgeden bölgeye farklılık göstermektedir. Özellikle düşük kaynaklara sahip bölgelerde, doğrulanmış KB ölçüm cihazlarına erişimde ve bu cihazların tedarik edilmesinde zorluklar meydana gelmektedir. Bu sebeple zorlukların ortadan kaldırılması için belirlenen gereklilikler her ortama göre uyarlanmalıdır (Silva vd., 2022).

Hatalı KB ölçümünün sık rastlanan bir nedeni, özellikle obez bireylerde kol çevresine göre küçük bir manşet kullanılmasıdır. Hastanın doktor randevusundan önce sigara veya kahve içmesi durumunda ölçülen KB değeri olduğundan yüksek şekilde ölçülebilmektedir. Bu nedenlere ek olarak hasta tarafından kullanılan ölçüm cihazının arızalanması da mümkün olabilmektedir (Messerli vd., 2007).

Bahsi geçen hataları önlemek amacı ile en doğru ve en güvenilir KB ölçümünü gerçekleştirebilmek için bazı kriterler belirlenmiş olup KB ölçümü yaparken bu kriterlere mutlaka uyulması gerekmektedir. Hasta oturur pozisyonda iken KB ölçülmeden önce 3-5 dakika dinlenmelidir. Ölçümler arasında 1-2 dakika olmalı ve birkaç gün boyunca ölçümler tekrarlanmalıdır. Günde en az üç ölçüm yapılmalıdır. Kol çevresi 22-32 santimetre (cm) olan hastalarda koldan ölçümler standart bir manşetle (12-13 cm genişliğinde, 35 cm uzunluğunda) yapılmaktadır. Daha geniş kol çevresine sahip hastalar için 15-18 cm genişliğinde manşetler kullanılmaktadır. KB ilk ölçüldüğünde her iki koldan ölçülmektedir. İki tarafta elde edilen değerler arasındaki farkın 20 mmHg SKB veya >10 mmHg diyastolik kan basıncı (DKB) olması durumunda potansiyel nedenler ekarte edilmelidir. Bu potansiyel nedenler; AS'ye bağlı aortik ark sendromu, nadiren vaskülit, tek taraflı subklavyen arter stenozu ve aort diseksiyonu olarak sıralanabilmektedir. KB sol kolda daha düşük ölçülmüş ise, aortik isthmus darlığı

olasılığı düşünülebilmektedir. Daha sonraki ölçümler her zaman daha yüksek değerlere sahip olan koldan yapılmaktadır (Jordan vd., 2018).

KB yönetimi için bir diğer alternatif yöntem invaziv stratejilerdir. HT için en çok çalışılan invaziv terapötik yaklaşım, renal denervasyon (RDN) yöntemi olarak tanımlanmaktadır (Tousoulis, 2020). RDN yöntemi, femoral arter içerisinden perkütan yolla yerleştirilen çeşitli tasarımlarda yapılan radyo frekanslı ablasyon kateterleri ile renal arter boyunca devam eden renal sinirlerin bilateral yıkımını kapsamaktadır (Yücel, 2017). Bu yöntemin etkinliği ve güvenilirliği yapılan randomize kontrollü çalışmalarda gösterilmiştir (Al Ghorani, Goetzing, Boehm & Mahfoud, 2022). Ancak günümüzde halen renal arterde meydana gelen hasar ve bunların yan etkiler ile nasıl ilişkilendirilebileceği konusunda bilgi eksikliği mevcuttur. Bu bağlamda optik koherens tomografi (OKT) doğru doku karakterizasyonu sağlayabilmekte ve klinik testler uygulanmadan önce az gelişmiş kateterlerin güvenliği hakkında fikir verebilmektedir (Tousoulis, 2020).

Avrupa Kardiyoloji Derneği (AKD) ve Avrupa Hipertansiyon Derneği (AHD), AH'nin tanı ve tedavisine ilişkin güncelleştirilmiş kılavuzlarında (Williams vd., 2018), doktor muayenhanesinde ölçüldüğünde yüksek KB tanısı için $>140/90$ mmHg eşik değerini belirlemiştir (Çizelge 2.1) (Jordan vd., 2018). Ancak KB değişken olduğundan tanı, KB değerlerinin çok yüksek olduğu durumlar haricinde, bir doktor muayenesinde gerçekleştirilen tek seferlik bir dizi KB ölçümüne dayandırılmamalıdır. Kılavuzlara göre KB, tanı konduktan sonraki 3 ay içinde normale döndürülmelidir (Kućmierz vd., 2021). Güncellenmiş AKD ve AHD kılavuzlarına göre, böbrek yetmezliği veya diyabeti olanlar da dahil olmak üzere tedaviye yeni başlayan tüm hastaların KB $140/90$ mmHg değerinin altına düşürülmelidir. Hasta bunu iyi derecede tolere edebilir ise yeni bir hedef KB aralığı tanımlanarak hastanın KB'nin daha da düşürülmesi önerilmektedir. 18-65 yaş arası hastalar için 130 mmHg değerinin altında ancak 120 mmHg değerinin üstünde SKB'nin hedeflenmektedir. Aynı durum diyabetik hastalar için de geçerli olmak ile birlikte, böbrek yetmezliği olan hastalar için tavsiye edilen hedef SKB aralığı, 140 mmHg değerinin altında ancak 130 mmHg değerinin üzerinde olacak şekilde tanımlanmaktadır. 65 yaş üstü hastalar için hedeflenen SKB aralığı, 130 mmHg değerinden az olmamak kaydı ile 140 mmHg değerinin altında olacak şekilde belirlenmiştir. Tüm hastalar için yaştan bağımsız hedef DKB aralığı, 70 mmHg değerinden az olmamak koşulu ile 80 mmHg

değerinin altında olacak şekilde hedeflenmektedir. Özellikle yaşlı hastalar için yan etkilere karşı tedbirli olunmalı ve ihtiyaç halinde KB hedefinin değiştirilmesi gerekebilmektedir (Jordan vd., 2018).

Çizelge 2. 1. Sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı eşik değerleri (Staessen vd., 2003).

GELENEKSEL KAN BASINCI ÖLÇÜMÜ		
KATEGORİ	SINIR DEĞERLER	
NORMOTANSİYON		
	OPTİMUM	<120/<80
	NORMAL	120–129/80–84
	YÜKSEK NORMAL	130–139/85–89
HİPERTANSİYON		
	1. DERECE (HAFİF)	140–159/90–99
	ALT GRUP SINIRI	140–149/90–94
	2. DERECE (ORTA)	160–179/100–109
	3. DERECE (ŞİDDETLİ)	>180/>110
	İZOLE SİSTOLİK HİPERTANSİYON	>140/<90
	ALT GRUP SINIRI	140–149/<90
OTOMATİK KAN BASINCI ÖLÇÜMÜ		
ÖLÇÜM TİPİ	NORMOTANSİYON	HİPERTANSİYON
AMBULATUVAR		
	24 SAAT	<130/<80 >135/85
	GÜNDÜZ	<135/<85 >140/90
	GECE	<120/<70 >125/75
KENDİLİĞİNDEN KAYDEDİLEN		
	SABAH	<135/<85 >140/>90
	AKŞAM	<135/<85 >140/>90
	HER İKİSİ DE	<135/<85 >140/>90

Genellikle bireyler yaşlandıkça HT'nin ana nedeni; damar sertliğinin artması ile birlikte klinik olarak izole sistolik HT olarak kendisini gösteren yüksek periferik vasküler direnç olarak tanımlanmaktadır (Jordan vd., 2018). HT'ye sahip yaşlı hastalar, genellikle ek komorbiditelere de sahip olmakta ve sıklıkla polifarmakoterapi almaktadırlar. Bu nedenle istenmeyen durumlar gelişebilmekte ve artmış morbidite gözlenebilmektedir (Al Ghorani vd., 2022). Ancak yaşlılar çoğunlukla klinik araştırmaların dışında tutulduğundan HT tedavisine ilişkin mevcut bilimsel kanıtlar da sınırlı olmaktadır. Bu bağlamda dikkat edilecek diğer önemli husus, yüksek risk altındaki hastalarda SKB'nin 120 mmHg ve DKB'nin 70 mmHg altına indirilmesi ile KB'nin aşırı agresif bir şekilde

düşürülmesinin KVH'nin riski için herhangi bir azalmaya neden olmaksızın aksine daha fazla yan etkiye yol açmasıdır (Jordan vd., 2018).

Epidemiyolojik kanıtlar ışığında, KVH'nin riski ile en az 115/75 mmHg olarak ölçülen KB değeri arasında sürekli bir ilişki olduğu görülmektedir. KB 140/90 mmHg'nın altında olup dolayısı ile HT tanısı almamış (normotansif) bireylerin sahip olduğu KB seviyeleri, HT hastası (hipertansif) bireylerin KB seviyesi ile aynı şekilde KVH riskine sahiptir. Bu nedenle bir dizi risk faktörüne sahip normotansif bireyler, herhangi bir risk faktörü ile ilişkili olmayan ancak KB değeri sınırda seyreden pre-hipertansif hastalardan daha yüksek risk altında olabilmektedir. Framingham kohortunda, normotansif aralıkta yüksek başlangıç tansiyonuna sahip bireylerde, KV olaylarda kademeli bir artış bildirilmiştir (Messerli vd., 2007). Tüm bunların yanı sıra gece boyunca SKB'de %10-20'lik bir azalmanın gözlenmesi fizyolojik düşüş olarak kabul edilmektedir. SKB düşüşünün gözlenmemesi veya tam tersi şekilde yükselmesi KVH için daha yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir (Al Ghorani vd., 2022).

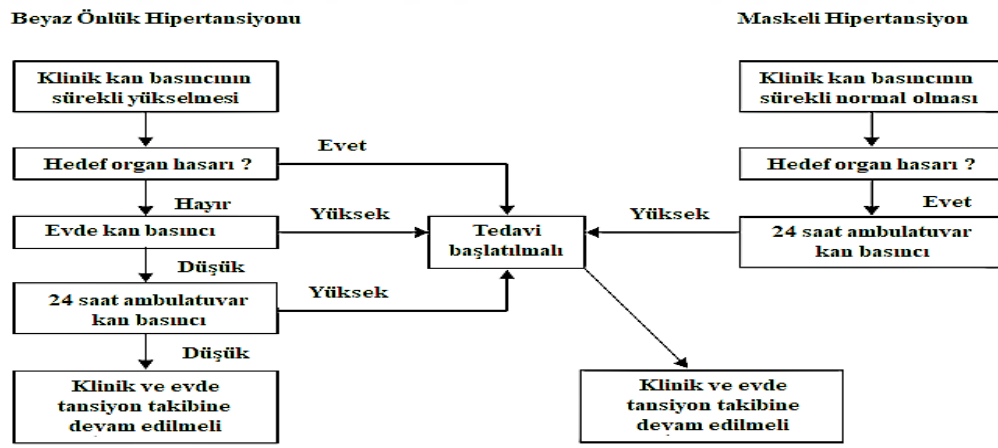
KB ölçümü ile birlikte AH tanısı için diğer risk faktörleri ve HOH göz önünde bulundurulmalıdır (Jordan vd., 2018). AH'nin birçok komplikasyonu nedeniyle, belli hastalıklara göre tercih edilen ek testler uygulanmaktadır. Bu ek testler; 12 derivasyonlu EKG ve serumda albümin, üre ve kreatinin seviyelerinin tespiti olarak belirtilmektedir. Bu testlerin yanı sıra 2. veya 3. evre HT'si veya diyabeti olan hipertansif hastalarda tanı; göz muayenesi, tahmini glomerüler filtrasyon hızı, ekokardiyografi, böbrek hastalıkları kapsamında abdominal ultrasonografi (USG) ve bilişsel işlevlerin değerlendirilmesini kapsamaktadır (Kućmierz vd., 2021). HT yönetimine ilişkin yayınlanan 2018 Avrupa Kılavuzları, HT tanısının ofis KB (OKB) ölçümünün yanı sıra 24 saatlik ambulatuvar KB (AKB) ölçümü veya EKB ölçümü gibi ofis dışı KB ölçümleri ile doğrulanmasını önermektedir (Williams vd., 2018). AKB ölçümü, KB'deki sirkadiyen değişimler hakkında bilgi sağlamak ile birlikte beyaz önlük HT'si ve maskeli HT tanısında önemli bir rol oynamaktadır (Al Ghorani vd., 2022).

2.2.3. Arteriyel Hipertansiyonun Çeşitleri

Beyaz önlük HT'sine sahip bireyin KB ölçümü doktor muayenehanesinde düzenli olarak yüksek seyretmektedir. Ancak aynı hasta EKB ölçümü yaptığında normal değerler gözlenmektedir. Bu HT türünün genel popülasyondaki prevalansı yaklaşık %13 olarak

bilinmektedir (Fagard & Cornelissen, 2007). Beyaz önlük HT'sine sahip bireylerin olmayan bireylere kıyasla KVH açısından daha yüksek risk altında olduğu düşünülmektedir (Jordan vd., 2018). Ancak HT hastası bireyler ile kıyaslandığında belirgin şekilde daha düşük KVH'nin riskinden bahsedilmektedir (Messerli vd., 2007). Beyaz önlük HT'sinde EKB ölçümü, doktorun ofisinde gerçekleştirilen KB ölçümü değerlerine kıyasla HOH ile daha iyi korele olmaktadır (Fagard & Cornelissen, 2007). Böylece hastaların tedavi koşullarını belirlemeyi mümkün kılmaktadır (Jordan vd., 2018).

Maskeli HT'de, ölçülen KB değerleri doktor muayenehanesinde normal değerlerde seyreder iken evde yüksek değerlerde gözlenmektedir. Genç yaştaki bireylerde, erkeklerde, sigara kullananlarda, aşırı kilolu veya diyabetik bireylerde, anksiyete veya stres yaşayanlarda daha sık görülmektedir. Maskeli HT'si olan bireyler, KVH'nin geliştirme sıklığı açısından KB sürekli yüksek seyreden bireylerle benzer risk durumuna sahip olmaktadır (Jordan vd., 2018). Beyaz önlük HT'si ile karşılaştırıldığında ise daha ciddi prognoza sahip olduğu ve daha az bilindiği görülmektedir (Şekil 2.4). Belli bir nedenle ilişkilendirilemeyen HOH, maskeli HT şüphesini tetiklemeli ve hastaya 24 saatlik ayaktan KB izleme prosedürü uygulanmalıdır (Messerli vd., 2007).



Şekil 2. 4. Kan basıncının klinikte, evde ve ambulatuvar takibi yolu ile beyaz önlük hipertansiyonunun ve maskeli hipertansiyonun değerlendirilmesi (Staessen vd., 2003).

Ortostatik hipotansiyon (OH), hasta üç dakika boyunca ayakta durduktan sonra KB'de 20 mmHg'den fazla SKB ve/veya 10 mmHg'den fazla DKB düşüş olarak

tanımlanan bir diğer tıbbi durumdur. OH şüphesi mevcut ise, özellikle yaşlı veya diyabetik bir hastada, hasta hala ayaktaiken 1 ve 3 dakika sonra iki ölçüm daha yapılmalı ve yapılan bu ölçüm 24 saatlik AKB ölçümü veya otomatik ev tansiyonu ölçümleri ile doğrulandıktan sonra tanı konmaktadır. Bahsi geçen KB ölçüm yöntemleri sonucu elde edilen değerler, genellikle doktor muayenehanesinde elde edilen değerlerden daha düşük olmaktadır. Bu nedenle belirlenen daha düşük sınır değerlerin dikkate alınması önerilmektedir (Jordan vd., 2018).

Dirençli hipertansiyon (DH), biri diüretik olmak üzere üç farklı gruptan antihipertansif ilacın uygun dozlarda kullanılmasına rağmen; hipertansif hastalar için 140/90 mmHg ve diyabet veya böbrek hastaları için 130/80 mmHg olarak belirlenen hedeften daha yüksek seyreden KB olarak tanımlanmaktadır (Al Ghorani vd., 2022). Bu tanımın doğrulanması için sekonder hipertansiyonun (SH) potansiyel nedenlerinin dışlanması gerekmektedir (Jordan vd., 2018; Messerli vd., 2007). Toplam HT popülasyonu içerisinde DH prevalansının %10'dan daha az olduğu tahmin edilmektedir. DH hastalarında genelde hem SKB hem DKB yüksek seyretmektedir (Yücel, 2017). Yaygın nedenleri arasında; yetersiz uygulanan ilaç dozu, yetersiz ilaç kombinasyonlarının seçimi ve yetersiz etki süresine sahip antihipertansif ajanların seçimi sayılabilmektedir (Messerli vd., 2007). DH, hasta ve uygulanan tedavi arasındaki uyum konusu ve ilaç rejiminin iyileştirilmesi ile tedavi edilebilir hale gelebilmektedir. DH hastalarında, değiştirilemeyen yüksek KV risk için terapötik spektrumun genişletilmesi önem arz etmektedir. Diğer taraftan DH'ye sahip hasta, reçete edilen ilaçları düzenli olarak alsa dahi KB yeterince kontrol altına alınamamaktadır (Jordan vd., 2018). Bu nedenle hastalar için, yaşam tarzı değişikliklerine ve antihipertansif ilaç tedavisine ek veya alternatif bir tedavi yöntemi olarak RDN düşünülebilmektedir (Al Ghorani vd., 2022).

AH vakalarının yaklaşık %10'u; böbrek, KV, nörolojik ve endokrin hastalıkların neden olduğu otonom aldosteron üretimi ile karakterize olan SH tanısı almaktadır (Kućmierz vd., 2021). Özellikle genç hastalarda ve KB kontrolünü sağlamanın zor olduğu hastalarda; renal arter stenozu, hiperaldosteronizm veya feokromositoma gibi SH nedenleri, ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır. SH nedenleri, potansiyel olarak tedavi edilebilen durumlar olarak tanımlanmaktadır. Bireyin öyküsü ve temel tanısal değerlendirmesi SH olasılığına işaret ediyor ise, hedefe yönelik ek bir değerlendirme yapılması önerilmektedir (Jordan vd., 2018).

AH vakalarının %90'ından fazlasında hastalığın etiyolojisi net olarak bilinmemektedir (Kućmierz vd., 2021). Bunun sebebi mevcut klinik yöntemlerin hiçbirinin yüksek KB'nin spesifik bir nedenini tespit edememesinden kaynaklanmaktadır (Jordan vd., 2018). Bu kriterdeki hastalara EH tanısı konmaktadır (Kućmierz vd., 2021). EH, tedavi edilebilir başlıca KV risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmaktadır. EH tanısı alan hastaların çoğunda, yaşam tarzında yapılan iyi yönlü değişimler ve birinci basamak antihipertansif ilaç kombinasyonu ile KB kontrol edilebilmekte ve KVH'nin riski azaltılabilmektedir. Farmakolojik olmayan başlıca önlemler; diyetle yer alan tuzu azaltma, aşırı alkol ve sigara tüketiminden kaçınma, dengeli beslenme, fiziksel egzersiz yapma ve kilo kaybetme olarak sıralanabilmektedir (Jordan vd., 2018).

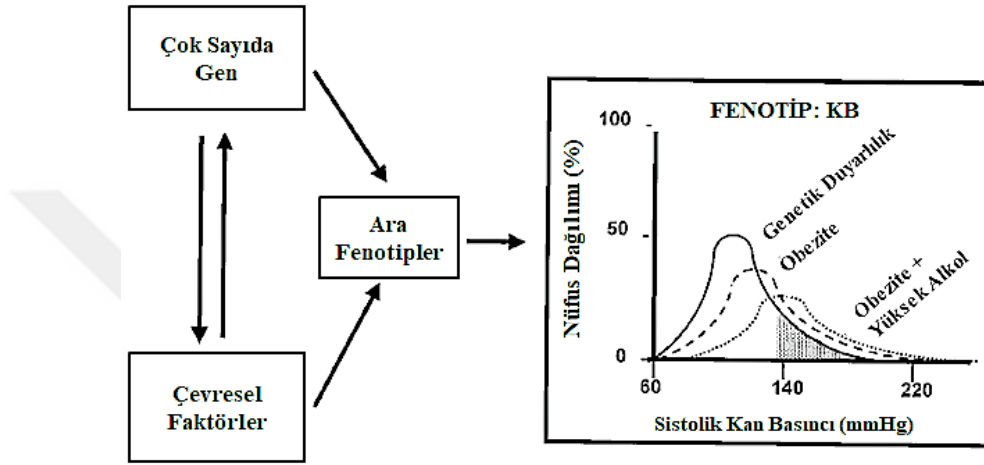
2.2.3.1. Esansiyel (Primer / İdiyopatik) Hipertansiyon

EH; renovasküler hastalıklar, böbrek yetmezliği, feokromasitoma, aldosteronizm ve diğer SH nedenleri veya mendelian formlar (monogenik) gibi sekonder nedenler ile ilişkilendirilemeyen yüksek KB'nin meydana getirdiği bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Carretero & Oparil, 2000). Hastalığın gelişmesi, nedeni bilinmeyen bir şekilde KB'de meydana gelen artış ile birlikte beyin, kalp ve böbrekte oluşabilecek hasar riskini artıran bir duruma sebep olmaktadır (Messerli vd., 2007). EH vakaları, tüm HT vakalarının %95'ini oluşturmaktadır. EH heterojen bir hastalık olup hastalar arasında yüksek KB'ye yol açan farklı nedensel faktörler öne çıkmaktadır (Carretero & Oparil, 2000).

Artmış periferik arteriyel direnç, EH'nin ayırt edici özelliği olarak tanımlanmaktadır. Atardamarlar, direncin aktif bileşeni olan VDKH'nin kasılmasına bağlı olmakta ve duvar-lümen oranındaki yapısal değişiklikler, vasküler yeniden şekillenme olarak tanımlanmaktadır. Bu morfolojik değişikliklerin, deneysel çalışmalardan elde edilen verilere göre nörohumoral ortamdaki değişiklikler yoluyla artan KB'ye karşı bir adaptasyon şeklinde ortaya çıktığı bilinmektedir (Kvist & Mulvany, 2001). Ek olarak HT ile ilişkili vasküler hipertrofi, küçük damarların kapanmasına da yol açabilmekte ve bu durum uzun süredir devam eden HT'de artan vasküler dirençte katkıda bulunabilmektedir (Staessen vd., 2003).

Bu alanda yapılan çeşitli araştırma çalışmalarına rağmen, EH'nin spesifik nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır (Staessen vd., 2003). EH'nin meydana geliş

nedeninin anlaşılabilmesi genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak gelişen bir hastalık olması ile ilişkilendirilmektedir (Şekil 2.5) (Jayaseelan & Arumugam, 2020). Çevresel faktörler ile sıkı bir şekilde ilişkilendirildiğinden başlıca değiştirilebilir bir risk faktörü olup bu hastalık için hızlı tanı ve erken tıbbi müdahale, artan KB'ye bağlı komplikasyonları en aza indirmeye yardımcı olmaktadır (Jayaseelan & Arumugam, 2020; Messerli vd., 2007).



Şekil 2. 5. Hipertansiyon gelişiminde genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim (Carretero & Oparil, 2000).

Bahsi geçen belirsizliklere karşın genetik, moleküler, klinik ve epidemiyolojik araştırmaların entegrasyonu sayesinde; genetik ve çevresel faktörlerin etkisi ile HT'ye neden olan süreçleri kontrol eden proteinlerin farklı şekilde ifade edilmesine yol açan mekanizmaların anlaşılabilmesi düşünülmektedir. Bu entegre yaklaşım ile genetik ve çevresel faktörlerin belirli kombinasyonlarının KB'yi yükselttiği hasta alt grupları tanımlanabilecek ve kişiye özel tedavi alanında fayda sağlanabilecektir (Staessen vd., 2003). Bu bağlamda her ne kadar EH nedenlerinin bilinmediği belirtilse de günümüzde genetik varyasyonlar, aşırı veya az eksprese edilen genler ve bunların yüksek KB'nin nedenleri ile ilişkilendirilen ara fenotipler hakkında az da olsa bilgi birikimi mevcuttur (Carretero & Oparil, 2000).

EH'de genetik faktörlerin rolünü anlamak adına yapılan nüfus temelli çalışmalardan elde edilen veriler ile, akrabalar arasında genellikle 0.1 ila 0.3 aralığında olan korelasyon katsayıları saptanmıştır. Ebeveyn-yavru korelasyonları ile kardeşler

arasındaki korelasyonlar karşılaştırıldığında ebeveyn-yavru korelasyonlarının daha küçük olma eğiliminde olduğu saptanmıştır (Staessen vd., 2003). Bu bağlamda yapılan aile çalışmalarından elde edilen sonuçlar; yüksek sodyum-lityum taşınımı, düşük idrar kallikrein atılımı, yüksek seviyede açlık plazma insülin konsantrasyonları, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) alt fraksiyonları, yağ paterni indeksi ve vücut kitle indeksi (VKİ) gibi kalıtsal yüksek KB ile ilişkili olabilecek birkaç olası ara fenotip önermektedir (Carretero & Oparil, 2000). Ek olarak KB'yi düzenleyen monojenik bozukluklar da mevcuttur. Ancak bu bozukluklar nadir olarak görülmekte ve genel olarak toplumdaki KB değişkenliğini açıklayamamaktadır. Günümüzde halen insan HT'si üzerinde etkili olan ortak genler tanımlanamamıştır. Bu tür genlerin mevcut olmadığı düşünülebileceği gibi KB'nin her biri küçük bir etkiye sahip olmak üzere; cinsiyete, ırka, yaşa veya yaşam tarzına göre değişen ve birçok lokustan oluşan bir mozaığe bağlı olduğu da düşünülebilmektedir. Bu bağlamda birçok çalışma KB'yi kontrol eden ana genlerin varlığının henüz tamamen göz ardı edilemeyeceği şekilde sınırlamalara sahip olmaktadır (Staessen vd., 2003).

Bahsi geçen sınırlamaların başlıca nedenleri; standardizasyon eksikliği, sürekli ve değişken bir fenotipin söz konusu olması, çalışmalara dahil edilen vaka ve kontrollerin uygunsuz seçimi, nüfusun karışımı ve tabakalandırma, yetersiz örneklem büyüklüğü, çevresel faktörlerin veya epigenetik mekanizmaların göz önüne alınmaması olarak sıralanabilmektedir. Bu sınırlamalara ek olarak genellikle yeterince dikkate alınmayan bazı eksiklikler de söz konusu olmaktadır. Bunlardan ilki, çoğu bireyde KB'nin yaşa bağlı niceliksel bir özellik olarak davranmasıdır. İlerleyen yaş ile birlikte; tuz duyarlılığı artmakta ve dolayısıyla KB ile vücuttaki değiştirilebilir sodyum arasındaki ilişki keskinleşmekte, baroreseptör refleksinin verimi azalmakta, renal perfüzyon azalmakta ve büyük arterlerin hem SKB hem de DKB üzerindeki tamponlama etkilerinde tehlike söz konusu olmaktadır. Diğer bir eksiklik, fenotip ve genotip arasındaki ilişkinin tutarsızlığından kaynaklanmaktadır. Yaşam boyunca genetik faktörler, çevresel faktörler ile sürekli etkileşim halinde olmaktadır. Birçok gen aynı fenotipi etkileyebilmekte veya tek bir mutasyon büyük ölçüde uyumsuz fenotiplerle ilişkilendirilebilmektedir. Mendel ilkeleri veya varyansın genetik, çevresel ve rastgele bileşenlere ayrıştırılmasının altında yatan varsayımlar; multigenik nicel özellikler için geçerli olmayabilmektedir. Bu durum göz önüne alındığında KV fenotiplerin, fetal gelişim ve doğum sonrası büyüme esnasında

ebeveynlerden gelen alellerin yetişkinliğe kadar farklı şekilde ifade edildiği görülmektedir. Bu duruma ek olarak epigenetik mekanizmalar transdiferansiyasyona yol açabilmekte ve bu sayede özelleşmiş hücrelerin işlevlerinde ciddi değişiklikler meydana gelebilmektedir (Staessen vd., 2003).

EH genellikle; yaşlanma, fazla kilolu olma, insülin direnci, diyabet ve hiperlipidemi gibi diğer KV risk faktörleri ile kümelenmektedir. SVH, mikroalbüminüri ve bilişsel işlev bozukluğu gibi HOH, hipertansif KVH'nin başlangıcında meydana gelebilmektedir. Ancak inme, kalp krizi, böbrek yetmezliği ve demans gibi hayati önem taşıyan ciddi durumlar genellikle uzun süreli ve kontrol edilmeyen EH'ye bağlı olarak meydana gelmektedir (Messerli vd., 2007). Hastalığın prevalansı, KB ölçümünün türüne ve tanı için kullanılan operasyonel eşiklere bakılmaksızın yaşla birlikte artmaktadır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, EH yetişkin nüfusun %25-35'ini 70 yaşın üzerindeki bireylerin %60-70'ini etkilemektedir (Staessen vd., 2003). Sanayileşmiş ülkelerde ise yaşam boyu hipertansif olma riski % 90'ları aşmaktadır (Messerli vd., 2007).

Framingham Kalp Çalışması'na göre (Franklin vd., 2001) artan yaş başlangıçta KV riskin ana belirleyicisi olarak DKB ile ilişkilendirilmiştir. Daha sonra bu durum SKB'ye bağlanmış olup ardından nabız basıncı ile ilişkilendirme konusunda hem fikir olunmuştur. 50 yaşın altındaki bireyler için DKB, KV riskin en güçlü belirleyicisi olarak tanımlanmaktadır. 50-59 yaş arası ise, bahsi geçen her üç KB endeksinin de benzer belirleyiciler olduğu bir geçiş dönemi olarak belirtilmiş ve 60 yaşından itibaren DKB koroner vakaların görülme riski ile negatif ilişkili bulunmuştur. Böylece nabız basıncı SKB'den daha üstün bir belirleyici haline gelmiştir. Orta yaşlı ve yaşlı hastalarda KV durumun ortalama basınçtan ziyade nabız basıncı yükseldikçe kötüleştiği bulgusu; erkeklerde ve kadınlarda, tedavi edilen ve edilmeyen hipertansif bireylerde ve miyokard enfarktüsü veya böbrek yetmezliği öyküsü olan hastalarda tutarlı olarak saptanmıştır. Kesitsel ve uzun dönem çalışmalardan elde edilen veriler, SKB'nin bireyin 80 yaşına kadar yaşla birlikte arttığını göstermektedir. Buna karşın, DKB 50 yaşına kadar yükselip sonrasında sabit kalmakta veya hafif derecede düşmektedir (Staessen vd., 2003).

Optimal kategoriye dahil edilen kalıtsal KB'ye sahip hastaların (120 / 80 mmHg), bir veya daha fazla risk faktöründen etkilenmesi ile KB'nin artması ancak normal aralıkta

kalmayı beklenmektedir (135 / 85 mmHg). Normal kategoriye dahil edilen kalıtsal KB'ye sahip hastalarda (130 / 85 mmHg), 1 veya daha fazla risk faktörünün etkisi ile KB'nin normal aralığın üst seviyesine yükselmesi (130-139 / 85-89 mmHg) veya 1. evre hipertansif (140-159 / 90-99 mmHg) kategoriye geçmesi beklenmektedir. Normal kategoride ancak yüksek kalıtsal KB'ye sahip hastaların (130-139 / 85-89 mm Hg); 1 veya daha fazla risk faktöründen etkilenmesi ile birlikte, KB'nin hipertansif aralığa (140 / 90 mmHg) yükseleceği tahmin edilmektedir. Hipertansif aralığa dahil olan kalıtsal KB'ye sahip hastaların; 1 veya daha fazla risk faktörünün etkisi ile EH'si daha şiddetli formda geliştirmesi ve evre 1 HT'den evre 2 veya evre 3 HT'ye geçiş söz konusu olabileceği öngörülmektedir (Carretero & Oparil, 2000).

KB ölçümü dışında tanı koyarken ve tedavinin takibi için hastadan istenen rutin testler; idrar tahlili, tam kan sayımı, biyokimyasal kan analizi (potasyum, sodyum, kreatinin, açlık glukozu, total ve HDL kolesterol) ve 12 derivasyonlu EKG'yi kapsamaktadır. Ek olarak hastada SH veya komorbid durumlar söz konusu ise tanı koymak için endike olan isteğe bağlı bazı testler de mevcuttur. Bunlar; kreatinin klirensi, 24 saatlik idrar proteini, mikroalbuminüri ölçümü, ürik asit, kalsiyum, glikozile hemoglobin, açlık trigliseridleri, sınırlı ekokardiyografi ve plazma renin aktivitesi/aldosteron ölçümleri olarak sıralanabilmektedir (Carretero & Oparil, 2000).

Bireyin tedavisine başlamadan önce eksiksiz bir anamnez alınmalı ve fizik muayene yapılmalıdır. Bunların yanı sıra yüksek KB'nin bilinen ve değiştirilebilir risk faktörlerini tespit etmek, HOH ve KVH'nin mevcudiyetini belirlemek, ek KVH ve komorbid prognozu veya tedaviyi etkileyebilecek diğer durumların belirlenmesi tedavi başarısını artıran etkenler olarak belirtilmektedir (Carretero & Oparil, 2000).

2.2.4. Arteriyel Hipertansiyonda Müdahale ve Tedavi Yaklaşımları

HT seviyesinden bağımsız olarak; diyetle düşük tuz alımı, fazla kiloların kaybı, egzersiz ve alkol kısıtlaması gibi farmakolojik olmayan yollarla KB'nin düşürülmesi her durumda tercih edilen bir yaşam tarzı olmalıdır. Bahsi geçen müdahaleleri konu alan meta-analizlerde KB'de küçük ama önemli bir düşüş kaydedildiği bilinmektedir. Ancak hastalar, yaşam tarzında yapılan iyileştirmelere adapte olmakta ve kurulan bu düzeni sürdürmekte genel olarak zorlanmaktadır. Bu nedenle, bazı normotansif bireylerde gerek duyulduğu takdirde antihipertansif tedavi düşünülebilmektedir. Ancak normotansif

bireylerin antihipertansif ilaç kullanmasının yararları oldukça küçük olup böyle bir yaklaşımın uzun vadedeki güvenliği belirsizliğini korumaktadır. Bu nedenle β blokerler ve diüretikler gibi metabolik yan etkileri olan ilaçların prehipertansif hasta tedavisinde kullanmak için uygun olmadığı söylenebilmektedir. Ayrıca ACE inhibitörlerinden anjiyo-ödem riski nedeniyle kaçınılması gerekmektedir. Günümüz şartlarında bahsi geçen popülasyonda güvenlik gereksinimlerini karşılayan iki ilaç sınıfı mevcuttur. Bunlar, anjiyotensin reseptör blokerleri (ARB) ve bazı kalsiyum kanal blokerleri (KKB) olarak belirtilmektedir (Messerli vd., 2007).

AH'nin tedavisi, farmakolojik veya non-farmakolojik olmak üzere iki şekilde mümkün olmaktadır. KV riski azaltmak için bu iki tedavi türü eş zamanlı olarak yürütülmelidir. Her ne kadar yaşam tarzı müdahaleleri ile KB'de düşüş sağlanabilse de HT hastalarının çoğu ilaç tedavisine ihtiyaç duymaktadır (Kućmierz vd., 2021).

2.2.4.1. Farmakolojik Olmayan Müdahale Yaklaşımları

Farmakolojik olmayan müdahaleler HT'nin önlenmesi ve yönetimi için önemli bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır (Silva vd., 2022). HT'de genetik ile çevresel faktör etkileşimi, KB artışının ne kadar şiddetli olacağını belirlemektedir (Kućmierz vd., 2021). Yaşam tarzında yapılan değişiklikler, EH hastalarında ilaç tedavisine başlanmayı geciktirmek ve hatta önlemek için yeterli olabilmektedir. Bu nedenle AKD/AHD'nin HT yönetimine ilişkin yayınladığı kılavuzlarda; tuz alımının sınırlandırılması, alkol tüketiminin azaltılması, ağırlıklı sebze ve meyve tüketimi gibi yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir (Williams vd., 2018). Hastalığı geciktirmenin ve önlemenin yanı sıra yaşam tarzında yapılan iyileştirmeler sonucunda, KB düşürmeye yönelik uygulanan tedavinin etkisi de artırılabilir. Ancak yüksek KV risk altındaki hipertansif hastalarda ilaç tedavisi geciktirilmemelidir (Al Ghorani vd., 2022).

Yaşam tarzında yapılması önerilen değişikliklerden biri sağlıklı ve dengeli bir diyet ile beslenmeyi kapsamaktadır. Önerilen ideal diyetle sebze, taze meyve, balık, tam tahıllar, az yağlı ürünler ve doymamış yağ asitleri içeren besinler ağırlıklı olarak tercih edilmeli; rafine şeker, doymuş yağ ve kolesterol tüketiminin azaltılması tavsiye edilmektedir. HT'ye sahip bireylerde, özellikle sodyum alımı yüksek bir diyetle sahip olanlarda, potasyum alımının artırılması KB'yi düşürmektedir. Dolayısıyla KVH'nin riski de azalmaktadır (Silva vd., 2022). Diyetle uygulanan sodyum kısıtlamasının, KB'yi

düşürücü etkisi olduğu ve KVH riskini azalttığı iyi bilinmektedir. DSÖ yetişkinlerde sodyum alımının günlük <2 g/gün seviyesine düşürülmesini önermektedir (Jeemon vd., 2021). Etkili sodyum kısıtlaması sayesinde HT hastalarının ihtiyacı olan anti-hipertansif ilaçların sayısı veya dozajı azaltılabilmektedir. Bu nedenle günlük tuz tüketiminin azaltılması; hükümet politikaları, gıda endüstrisi ve halkın eğitilmesi ile sağlanabilecek bir halk sağlığı önceliği olarak dikkate alınmalıdır (Silva vd., 2022).

Bu alanda benzer geçmişe ve kültürel alışkanlıklara sahip Amazon kabilelerini kapsayan bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Lowenstein, 1961). Bu çalışma, yaşam tarzları Fransiskenlerden etkilenen Mundurucuslar'ın, yiyeceklerini korumak ve tatlandırmak için diyetlerinde tuza yer vermesi ve buna karşılık Carajashılar'ın Batılılarla çok az temas kurduğundan neredeyse hiç tuz tüketmemesi temeline dayanmaktadır. Çalışma sonucunda, yetişkin yaşamı boyunca ortalama KB'nin Mundurucus'ta artan yaşla birlikte yükselmesine karşılık Carajas'ta ortalama SKB ve DKB'nin sırasıyla yaklaşık 110 mmHg ve 60 mmHg olarak seyrederek yükselmediği görülmüştür (Fuchs & Whelton, 2020). Bu alanda yapılan bir diğer çalışma, Brezilya'da tuza erişimi sınırlı bir başka izole toplum olan Yanomamo Kızılderilileri'nin yaşlanmayla birlikte KB'de çok az bir artış gösterdiğini saptamıştır (Oliver, Cohen & Neel, 1975). Bu topluma dahil olan bireylerin idrarlarında çok az miktarda sodyum atmalarının yanı sıra plazma renin aktivitesi ve aldosteron seviyelerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular ile biyolojik olarak normal kabul edilen KB değeri, renin aktivitesi ve aldosteron değerleri; yüksek miktarda diyet sodyumuna maruz kalan kültürleşmiş toplumlarda tespit edilen nispeten yüksek KB seviyeleri, düşük plazma renin aktivitesi ve aldosteron seviyeleri arasında karşılaştırma yapıldığında farklılıklar olduğu görülmektedir. Tüm bunların yanı sıra hayvan modeli çalışmaları, popülasyon çalışmaları ve klinik deneyler; aşırı sodyum tüketiminin yaşa bağlı KB artışlarına neden olmadaki merkezi rolünü destekleyen kanıtlar sunmaktadır (Fuchs & Whelton, 2020).

Tüketim kısıtlamasının yanı sıra tüketilen tuz içeriğinin değişikliği de KB'yi düşürmek için farmakolojik olmayan bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bu değişim sodyum klorürün; potasyum, magnezyum veya alüminyum içeren diğer tuz çeşitlerinden herhangi biri ile kombinasyonu yapılarak kısmen değiştirilmesini içermektedir. Tuz kısıtlaması veya değişikliği yalnızca hipertansif bireyler için değil, normotansif bireyler

için de uygulandığı takdirde HT insidansını yarıya indirebilmekte ve buna bağlı olarak KVH'nin insidansını da azaltabilmektedir (Silva vd., 2022).

Aşırı kilolu ve obez kişilerin, AH açısından daha yüksek risk altında olduğu bilinmektedir (Jordan vd., 2018). Aynı zamanda bu bireyler; obezite, obstrüktif uyku apnesi ve erken artrit nedeniyle steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçların sık kullanımı gibi SH nedenleri olabilecek durumlarla yakından ilişkilendirilmektedir (Silva vd., 2022). Bu hastalar, anti-hipertansif ilaca daha fazla ihtiyaç duymakta ve normal kilosunda olan hastalara göre tedaviye daha fazla direnç göstermektedir. Günümüzde her bir birey için VKİ'nin 20 - 25 kg/m² arasında olması hedeflenmektedir. Buna ek olarak bel çevresi ölçümünün erkeklerde 94 cm'den, kadınlarda ise 80 cm'den az olması önerilmektedir (Jordan vd., 2018). Kilo kaybı KB'yi düşürebilmektedir (Messerli vd., 2007). Özellikle bariatrik cerrahi alanında günümüzde gelinen noktada büyük ölçüde kilo verme söz konusu olabilmektedir. Bu durum başlangıçta KB'de belirgin bir iyileşme ile ilişkilendirilmekte ancak uzun vadede bu etki azalmaktadır (Jordan vd., 2018). Aşırı kilolu veya obez hastalarda kalıcı olarak verilen 10 kg, SKB'de 6 ve DKB'de 4,6 mmHg'lik bir düşüş ile ilişkilendirilmektedir (Appel vd., 1997; Silva vd., 2022). VKİ obeziteyi tanımlamak için kullanılsa da viseral adipozite, KB ile obezite arasındaki ilişkiyi tanımlamada daha önemli görünmektedir. Ek olarak vücutta meydana gelen yağlanma, HT hastası bireylerde metabolik sendromun var olma olasılığını artırmaktadır. Metabolik sendrom bireyin; HT, diyabet ve erken yaşta KVH geliştirme riskini yükselten bir durum olarak tanımlanmaktadır. Yağlanma ve KB arasındaki ilişki erken çocukluktan itibaren görülebilmekte ve HT gelişme olasılığının önemli bir belirleyicisi olarak tanımlanmaktadır (Messerli vd., 2007). Metabolik sendrom, çok yüksek risk içeren bir durumdur. Bu hasta popülasyonu içerisinde yalnızca vakaların %80'inde mevcut olan HT'nin değil, ilgili diğer tüm risk faktörlerinin değiştirilmesi gerekmekte ve HT yönetimi, global anlamda KV risk kontrolüne entegre edilmelidir (Silva vd., 2022). Viseral yağ ile metabolik sendromun diğer özelliklerinin sıkça ilişkilendirilmesi, HT ile diyabet gelişme riskinin artışı arasındaki ilişkiyi de açıklamaktadır. Buna paralel olarak HT'ye sahip bireylerin, normotansif bireylere göre yeni başlangıçlı diyabet geliştirme riskinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (Messerli vd., 2007).

Bireyin kilosunun ideal vücut ağırlığı aralığına indirgenmesi KB'yi düşürmek ile birlikte antihipertansif ilaçların etkinliğini de artırmaktadır. Hipertansiyonu Durdurmak

için Diyet Yaklaşımları (Dietary Approaches to Stop Hypertension / DASH) adı verilen diyet, prehipertansif ve hipertansif hastalar için potansiyel olarak etkili bir tedavi yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Yapılan sistematik bir inceleme sonucunda DASH diyetinin hipertansif hastalarda; KB değerini, bel çevresi kalınlığını ve trigliserit konsantrasyonunu azaltabileceği gösterilmiştir (Mancia vd., 2007). Düşük sodyum alımı ve DASH diyeti kombinasyonunun, tek başına sodyum kısıtlamasına veya tek başına DASH diyeti uygulamasına kıyasla KB değerlerinde daha fazla düşüş sağladığı bilinmektedir (Silva vd., 2022).

HT'nin önlenmesi ve tedavisi açısından düzenli fiziksel aktivite oldukça fayda sağlamak ile birlikte daha düşük KV risk ve mortalite ile ilişkilendirilmektedir. Sistematik bir inceleme sonucunda, herhangi bir düzeyde fiziksel aktiviteyi yaşamlarına dahil eden yüksek KB'ye sahip hastalarda KV mortalite riskinin azaldığı görülür iken (%16-%67); fiziksel olarak aktif olmayan bireylerde mortalite riskinde iki kattan fazla artış olduğu görülmüştür (Rossi, Dikareva, Bacon, Daskalopoulou, 2012). Bu verilerin yanı sıra düşük yoğunluklu fiziksel aktivitenin, KB'yi orta veya yüksek yoğunluklu antrenmana göre daha az düzeyde düşürdüğü bilinmektedir. Ancak yine de mortalite azalması ile ilişkilendirilmektedir. Hipertansif hastalara, haftada 5 ila 7 gün en az 30 dakika olmak üzere orta yoğunlukta dinamik aerobik egzersize katılmaları önerilmek ile birlikte haftada 2 ila 3 gün direnç egzersizi yapmaları tavsiye edilmektedir (Mancia vd., 2007; Silva vd., 2022).

Alkol tüketimi ile HT arasında pozitif doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Bu konuda önerilen yaşam tarzı, alkolden tamamen uzak durulması veya alkol alımının haftada 2 gün ara verilerek günde ≤ 2 olmak üzere standart içki limiti ile sınırlandırılması şeklinde tanımlanmaktadır. Bu yaşam tarzı benimsendiği takdirde SKB'de 3-4 mmHg'ye kadar düşüşün meydana gelmesi beklenmektedir (Roerecke vd., 2018; Silva vd., 2022).

Sigara kullanımı, esas olarak SSS'nin uyarılması yolu ile hipertansif bir etkiye neden olmaktadır (Kućmierz vd., 2021). Sigara kullanımını azaltmak, KVH'nin yükünü iyileştirmenin temeli olarak kabul edilmektedir. Erken yaşlardan başlamak üzere bireylere eğitim verilerek sigara bağımlılığı ve sigaranın olumsuz etkilerine yönelik bilinçlendirme programlarının yürütülmesi oldukça önem arz etmektedir. Bu eğitim programlarına ek olarak; sigara vergilendirmesi ve fiyatları, sigara reklamlarının

yasaklanması, kamuya açık alanlarda sigara içilmesinin yasaklanması, paketlere çeşitli uyarıların eklenmesi ve sigara karşıtı reklamlar yoluyla sigara kullanımının riskleri konusunda farkındalığın artırılması, sigara kullanımının yükünü azaltmak için alınabilecek kritik önlemler olarak sıralanabilmektedir (Silva vd., 2022).

Çevrede mevcut olan yeşilliğin yetersizliği, kötü barınma koşulları, yakıt kullanımı ve iç mekan hava kirliliği gibi çeşitli çevresel faktörler KB'yi etkilemektedir. Hava kirliliği ile KVH arasında bir ilişki bulunmaktadır. Bu nedenle, iç ve dış ortam hava kirliliğinin kontrol altına alınması, çevredeki mevcut yeşillik seviyelerinin iyileştirilmesi ve daha temiz yakıtlarının desteklenmesi KB seviyeleri üzerinde faydalı etkilere sahip olabilmektedir. Hava temizleyiciler ile yapılan çalışmalarda SKB'nin 4 mmHg'ye kadar düştüğü gösterilmiştir. Tüm bu bilinenlere paralel olarak HT'nin önlenmesi ve kontrolünde önemli roller oynayabileceği için, sağlıklı bir çevreyi teşvik eden kamu politikalarına öncelik verilmelidir (Silva vd., 2022).

Günümüze dek yapılmış çeşitli çalışmalar sonucunda, uzun süreli stresin insanları ve hayvanları HT'ye yatkın hale getirebileceği ve belirli popülasyonların stres kaynaklı HT gelişimi açısından risk altında olduğu anlaşılmıştır. Uzun süreli stres kaynaklı HT, hipertrofi veya AS için nörohormonal trofik faktörlerin bir sonucu olarak düşünülmektedir. Rahatlama tekniklerinin HT hastalarının tedavisindeki kullanımı gün geçtikçe daha fazla yaygınlaşmaktadır. Depresyon, kontrolsüz HT yaşayan hastalarda yaygın bir özellik olarak tanımlanmakta ve kontrolsüzlüğe katkıda bulunabilmektedir. Sonuçları iyileştirebilecek basit ve uygun maliyetli bir araç olarak hipertansif hastalarda yapılan depresyon taramasının, tüm hipertansif hastalara uygulanması gerekmektedir (Silva vd., 2022).

Yaşam tarzında yapılacak iyi yönlü değişimler oldukça önemli olsa da hastaların yalnızca küçük bir kısmı HT tanısı aldıktan sonra yaşam tarzlarını değiştirmektedir. Sağlıklı bir yaşam tarzının başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için sürdürülebilirlik en önemli ancak en büyük zorluk olarak belirtilebilmektedir. Sağlıklı yaşamı destekleyen politikaların uygulanmasını hızlandırabilecek toplum düzeyindeki stratejiler, bireyler için sağlıklı yaşam tarzının benimsendiği ve sürdürülebildiği bir ortam yaratabilmek ile birlikte sağlık problemleri üzerinde çok büyük olumlu etkilere sahip olabilmektedir. Başta çocuklar olmak üzere tüm yaş gruplarında bu konuda eğitimlerin verilmesi önemli

bir gereklilik olarak görülmektedir. Çünkü yetişkinlerin hali hazırda sahip olduğu olumsuz alışkanlıkların değiştirilmesi, küçük yaşlardan başlayarak verilen eğitimleri yaşama entegre edebilmekten çok daha zor olmaktadır (Silva vd., 2022).

2.2.4.2. Farmakolojik Tedavi Yaklaşımları

AH gelişimine katkıda bulunan risk faktörleri yalnızca çevresel faktörler ile sınırlı olmamaktadır. RAAS'nin uygunsuz aktivasyonu, OS ve düşük dereceli enflamasyon dahil olmak üzere çeşitli patofizyolojik faktörler; AH gelişimi için oldukça önemlidir. Bu faktörlerin yanı sıra hiperinsülinizmde bozulmuş insülin aracılı vazodilatasyon, SSS'nin aşırı aktivasyonu ve böbrek tarafından anormal sodyum kullanımı da AH gelişimine katkıda bulunmaktadır (Kućmierz vd., 2021).

20. yüzyılın ilk yarısında yayınlanan ve yüksek KB'nin KVH'ye neden olduğunu öne süren çalışma raporlarına rağmen, birçok uzman yüksek KB'nin önemsiz bir bulgu olduğuna inanmakta ve iyi huylu EH terimini kullanmaktaydı (Fuchs & Whelton, 2020). Bu görüşe sahip olanlardan biri olan Paul Dudley White, 1931 yılında HT'nin tedavisi hakkındaki düşüncesini "Hipertansiyonun tedavisi, bilginizin şu anki durumunda neredeyse umutsuz bir hedeftir ve aslında hipertansiyonun, onu kontrol edebileceğimizden emin olsak bile tahrif edilmemesi gereken önemli bir telafi edici mekanizma olabileceğini bilmeliyiz." cümlesi ile dile getirmiştir. White bu düşüncesi ile EH'nin klinik önemi hakkında hedef organların yeterli perfüzyonunu garantilemek için KB artışının gerekli olduğunu tanımlamıştır. O günden bugüne dek yapılan birçok çalışmanın bulguları, KB'nin düşürülmesinin yüksek riskli normotansif bireyler dahil tüm şiddet derecelerinde HT için KV morbidite ve mortaliteyi azalttığını kesin olarak göstermektedir. Bu bulgular ışığında White, 1951 yılında Kalp Hastalıkları adlı kitabının dördüncü baskısında "Hipertansiyonun tedavisi şu anki bilgilerimize göre zor bir görev olmaya devam etmektedir, ancak devam etmekte olan önemli çalışmalar gelecek için büyük umut vermektedir." şeklinde mevcut düşüncesinin değiştiğini ifade etmiştir (Messerli vd., 2007).

Hastanın genel KV riski ne kadar yüksek ise KB'nin de bir o kadar sıkı kontrol edilmesi ve ilaç tedavisine erkenden başlanması önerilmektedir. Buna ek olarak hastaya herhangi bir tedavi uygulanmadan önce, SH'nin potansiyel nedenleri dışlanmalıdır. Ayrıca beyaz önlük HT'si veya suboptimal ilaç uyumu gibi nedenlere bağlı olarak

meydana gelebilecek tedaviye uyumsuzluk durumu da göz önünde bulundurulmalıdır. Hastanın tedaviye karşı gösterdiği uyum, kontrollü ilaç alımından sonra yapılacak KB ölçümü ve hastanın serum veya idrarındaki aktif maddelerin ölçümüyle kontrol edilebilmektedir (Jordan vd., 2018).

Farmakolojik tedavi, RAAS'nin aşırı aktivasyonu gibi bilinen patofizyolojik süreçlere dayanmaktadır (Kućmierz vd., 2021). İlaç tedavisi tek bir ilaç ile uygulanabileceği gibi kombine bir preparat ile de başlatılabilmektedir (Jordan vd., 2018). Bu alanda yayınlanmış kılavuzlar; ACE inhibitörü, ARB'leri, beta blokerler, tiazidler, tiazid benzeri diüretikler ve KKB'lerini farklı kombinasyonlarda olmak üzere tercih edilebilecek ilk ilaçlar olarak önermektedir (Kućmierz vd., 2021; Muñoz-Durango vd., 2016). Antihipertansif ajanların düşük doz kombinasyonları, yüksek doz monoterapilere kıyasla KB'yi düşürmede daha etkili ve iyi tolere edilebilir olmaktadır. Buna bağlı olarak yayınlanmış HT kılavuzları başlangıçta düşük doz farmakolojik tedaviyi ve ardından elde edilen KB ve tolere edilebilirliğe bağlı olarak yeni ilaçların eklenmesini önermektedir (Mancia vd., 2007; Silva vd., 2022). AKD ve AHD'nin yayınladığı ortak güncel kılavuzlar, farmakoterapi başlangıcında tercihen tek bir tablette kombine edilmiş iki antihipertansif ilaç alımını önermektedir (Williams vd., 2018). Önerilen birinci basamak tedavi; ACE inhibitörleri, AT1R blokerleri (sartanlar), dihidropiridin tipi uzun etkili KKB'ni ve tiazid benzeri diüretikler olmak üzere dört ilaç sınıfından oluşan preparatlardan oluşmaktadır. Bazı ülkelerde betaadrenoreseptör blokerleri, KV koruma açısından bahsi geçen ilaç sınıflarından daha düşük koruma sağlamasına rağmen ilk basamak tedavi için uygun kabul edilmektedir. Beta-blokerler; kalp hızının kontrolü için kullanılmaktadır. Hasta için antihipertansif ilaç sınıflarından hangisinin tedaviye uygun olduğu, bireysel etkinlik ve tolere edilebilirliğe dayanmaktadır. Bazı antihipertansif ilaçlar, hastada hali hazırda mevcut olan ek bir hastalığın sonuçlarını iyileştirebilmektedir. Bu durum göz önüne alınarak bahsi geçen hastalarda tercihen kullanılabilmektedir. Günde bir defa alınan uzun yarılanma ömrüne sahip preparatlar, tedaviye uyum açısından tercih edilebilmektedir. Hastaların uzun yarılanma ömrüne sahip antihipertansif ilaçları akşam saatlerinde almaları dolaşım düzeninin sirkadiyen ritimleri göz önüne alındığında tedaviden daha etkili sonuç alınmasını sağlayabilmektedir. Ancak bu durumun KV olaylar üzerinde olumlu bir etkisi olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır (Jordan vd., 2018).

Tiyazid benzeri diüretikler, antihipertansif tedavinin temelini oluşturmaktadır. Bu ilaç grubu; plazma renin aktivitesini, Ang II konsantrasyonlarını ve ürik asidi artırmak ile birlikte SSS'yi uyarmaktadır (Messerli vd., 2007). Tiyazid benzeri diüretikler; hidroklorotiyazid, indapamid veya klortalidondan daha az etki göstermektedir. Ancak dünya çapında en sık reçete edilen ilaç olarak öne çıkmaktadır. Beta-blokerler, KB'nin düşürülmesinde diğer birinci basamak antihipertansif ilaç sınıflarından daha düşük etki göstermektedir. Bunun yanı sıra nonvazodilatör beta-blokerlerin, glukoz metabolizması üzerinde zararlı etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Buna karşın beta-blokerler, akut miyokard enfarktüsü geçiren veya kronik konjestif KY olan hastaların prognozunu iyileştirmekte ve bu nedenle antihipertansif etkisinin düşüklüğünden bağımsız olarak bahsi geçen durumlara sahip olan hastalar için endike olarak kabul edilmektedir (Jordan vd., 2018).

ACE inhibitörleri ve AT1R antagonistleri, gebelik sırasında kontrendike olarak tanımlanmaktadır. Gebeler, dihidralazin ve alfa-metildopa gibi antihipertansif ilaçları alabilmektedir. Bu antihipertansif ilaçlara ek olarak metoprolol gibi beta-blokerleri ve nifedipin alabilmektedirler. Ancak dihidralazinin ve nifedipinin ilk trimesterde verilmesi önerilmemektedir (Jordan vd., 2018).

Farklı ilaç sınıflarına karşı oluşan yanıtlar, heterojen popülasyonlarda birbiriyle karşılaştırıldığında benzer olmaktadır. Buna karşın bireysel tepkiler çarpıcı biçimde farklılık gösterebilmektedir. Bazı belli başlı durumlar, KB'yi düşüren ilaçlara hasta tarafından verilebilecek ilk yanıtı ön görmeye yardımcı olabilmektedir. KB'yi düşürmek için kullanılan tiyazid tipi diüretikler veya KKB, yaşlı hastalarda veya her yaştan siyahi etnik kökenli hastalarda genellikle en yüksek etkiyi göstermektedir. Bu durumun yanı sıra yaşlılara kıyasla genelde daha aktif bir RAAS'ye sahip olan gençlerde, RAAS'nin inhibitörleri ile KB etkili bir şekilde düşürülmektedir. KB, hedef KB'den 20 mmHg ve üzeri değerde olacak şekilde ölçülen hastalar için yayınlanan kılavuzlar, bu hastalarda monoterapinin yetersiz olacağı öngörülebilir olduğundan iki farklı ilacı kapsayan bir kombinasyon ile ilk tedavinin verilmesini önermektedir (Messerli vd., 2007).

HT, demans riskini artırmaktadır. Buna karşın antihipertansif tedavi, demans riskini azaltabilmekte ancak tüm antihipertansif ilaçlar için bu durum geçerli olmamaktadır (Messerli vd., 2007).

AF, uzun süreli HT'nin az bilinen bir komplikasyonu olarak tanımlanmak ile birlikte morbidite ve mortalite olasılığını artırmaktadır. Bazı bulgular, KB'yi düşürmeye yönelik uygulanan tedavinin AF gelişme riskini azaltabileceğini göstermektedir. Özellikle, RAAS'yi inhibe eden tedavi yaklaşımının, diğer antihipertansif ilaç sınıflarına kıyasla, yeni başlayan AF'yi önleme olasılığının daha yüksek olduğu düşünülmektedir (Messerli vd., 2007).

Bahsi geçen tedaviler uygulansa dahi tedavi edilen hipertansif hastaların yaklaşık %10'unda hedeflenen KB kontrolü sağlanamamaktadır (Jordan vd., 2018). Kontrol altına alınamayan KB'ye katkıda bulunan en önemli faktörlerden biri antihipertansif ilaçlara karşı düşük bağlılıkla açıklanabilmektedir. İlaça bağlılığın önündeki engeller çok faktörlü olup karmaşık ilaç rejimleri, dozaj ve sıklık gibi uygunluk faktörleri, unutkanlık, alınan tedavinin fayda sağlamadığını düşünme, tedavi maliyeti ve bakıma sınırlı erişim olarak sıralanabilmektedir (Silva vd., 2022).

Hastalar onlarca yıl antihipertansif tedaviye maruz kalmakta ancak bu ilaçların uzun vadedeki güvenliği iyi bilinmemektedir. Prospektif randomize çalışmaların çoğu birkaç yıl içinde sona ermektedir. Bu durum, antihipertansif tedavi ile malign hastalık riskinin artma olasılığı açısından endişe verici olmaktadır. HT'nin kötü huylu hastalık riskini artırdığı daha önce gösterilmiştir. Bu risk artışının, HT ve kötü huylu hastalıkların bazı ortak risk faktörlerini kapsamasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Messerli vd., 2007).

AH'de yaşam tarzında yapılan iyileştirmeler ve ilaç kombinasyonu ile uygulanan tedavi sonucunda KV risk önemli ölçüde azaltılabilmektedir. Çoğu hastada KB, birinci basamak antihipertansif ilaçlarla etkili bir şekilde düşürülebilmekte ancak monoterapi genellikle yeterli olmamaktadır (Jordan vd., 2018).

Tedavide karşılaşılan zorluklardan birisi, hasta için hedeflenen KB'ye ulaşıldığında hasta tarafından ilacın bırakılabileceği düşüncesi olarak belirtilmektedir. Bu durum hipertansif hastaların neredeyse yarısında görülen tedavi başarısızlıklarını açıklayabilmektedir. DSÖ, hastaların % 50-70'inin antihipertansif ilaçlarını reçete edildiği gibi almadığını belirtmektedir. Tedavide karşılaşılan bir diğer zorluk ise, beyaz önlük HT'sinin gereğinden fazla dozlarda tedavi edilebileceği gibi maskeli HT'nin, beyaz önlük

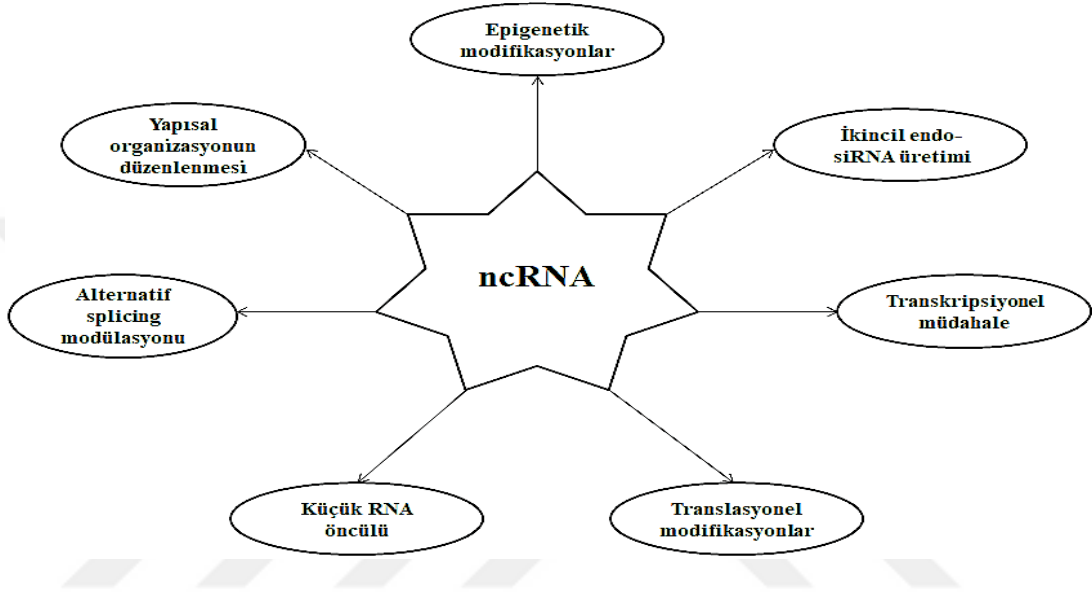
HT'sinden daha ciddi bir prognoza sahip olması ile birlikte yetersiz tedavi edilebilme ihtimalinin mevcut olmasıdır (Messerli vd., 2007).

2.3. Kodlamayan RNA (non-coding RNA / ncRNA)

İnsan genomu üzerinde en çok çalışılan diziler, protein kodlayan genlere ait diziler olmuştur. Ancak İnsan Genom Projesi ile birlikte protein kodlayan genlerin kodlayıcı ekzonlarının tüm genomun yalnızca %1,5'ini oluşturduğu anlaşılmıştır. Bu oran, translasyona uğramayan bölgeler (untranslated region / UTR) dikkate alındığında yaklaşık %2'ye çıkmakta ve yaklaşık 20.000 kadar protein kodlayan genin varlığından bahsedilebilmektedir (Esteller, 2011; Santosh, Varshney & Yadava, 2015). Elde edilen bu veriler hakkında bilim insanlarının uzlaşmaya varmasının akabinde insan genomunun %98'ini kapsayan ve protein kodlamayan diziler için olası işlevsel rolleri araştıran yeni bir çalışma alanı doğmuştur. Bu diziler, insan genomunun %90'ından fazlasının, protein kodlama kapasitesi çok az olan veya hiç olmayan on binlerce RNA'yı içeren karmaşık bir transkript ağ aracılığı ile transkribe edilmesini sağlayan ncRNA'lar olarak tanımlanmaktadır (Santosh vd., 2015). Bu tanımın ortaya atılması ile bir türün karmaşıklık derecesinin, protein kodlayan genlerin sayısından ziyade ncRNA'ların sayısı ile daha iyi korelasyon gösterdiği kanısı yaygınlaşmıştır (Shirazi-Tehrani, Chamasemani, Firouzabadi & Mousaei, 2022). ncRNA'lar, birçok hastalığın patolojisindeki varsayılan rolleri nedeniyle özellikle ilgi çekmekte ve bazı ncRNA'lar, birden fazla patolojik mekanizmaya katkıda bulunuyor gibi görünmektedir (Lekka & Hall, 2018).

Günümüzde insan genomu tarafından çok sayıda ncRNA'nın şifrelendiği bilinmektedir. ncRNA'ların çoğu, hücrel homeostazın düzenlenmesinde çeşitli rollere sahip olmaktadır. ncRNA'ların bazıları, hücredeki epigenetik değişikliklerde veya modifikasyonlarda doğrudan rol oynamaktadır. Ek olarak ncRNA'lar, hücrenin gen ekspresyonunda düzenleyici ve işlevsel rollere sahiptir. ncRNA'lar bahsi geçen rollerinin yanı sıra; transkripsiyonel girişim, telomer bakımı, imprinting, transkripsiyon sonrası ve translasyonel kontrol, yapısal organizasyon, hücre farklılaşması ve gelişimi olmak üzere biyolojik fonksiyonları da düzenlemektedir (Şekil 2.6). Ayrıca upstream promotörden transkript edilen ncRNA'lar, RNA polimeraz II (Pol II) alımını inhibe ederek veya kromatin yeniden şekillenmesini indükleyerek downstream genin ekspresyonunu negatif

veya pozitif olarak etkileyebilmektedir (Santosh vd., 2015). Türler arasında yüksek oranda korunan kodlama bölgelerinin aksine ncRNA'lar, genellikle evre, doku ve türe özgü olmaktadır. Bu durum, insanlarda mevcut olan transkriptomun karmaşıklığına ve çeşitliliğine katkıda bulunan bir faktör olarak tanımlanmaktadır (Marques, Booth & Charchar, 2015).



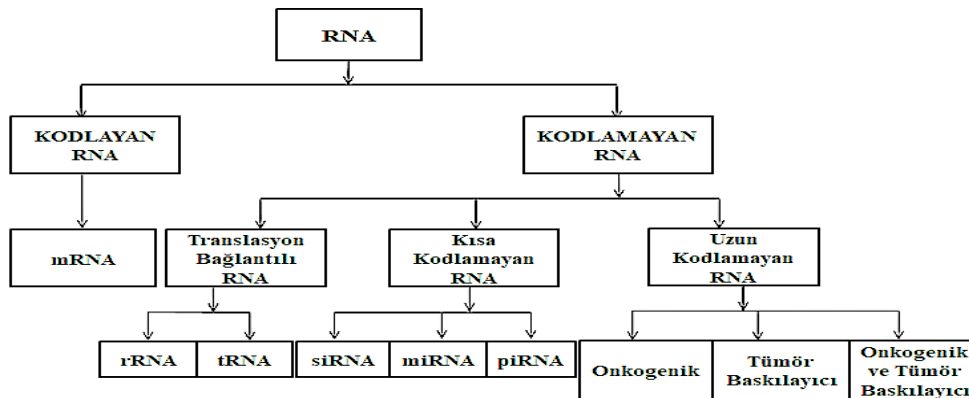
Şekil 2. 6. non-codingRNA'lar için paradigmlar (Santosh vd., 2015).

Bugüne dek yapılmış en geniş kapsamlı genom çapında ilişkilendirme meta-analizi sonucunda, bireyler arası KB varyanslarının yalnızca %2,2'si KB-HT ilişkili ortak tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism - SNP) ile açıklanabilmiştir. Elde edilen bu bulgunun ve genomun kodlayıcı bölgelerinin tüm insan DNA'sının yaklaşık %2'sini oluşturduğu gerçeğinin ortaya konması ile; kodlayıcı genlerin yanı sıra diğer mekanizmaların da KB düzenlemesine katkıda bulunabileceği hipotezi desteklenmiştir (Marques vd., 2015). ncRNA'ların KV sistem ile ilgili hemen hemen tüm hücre tiplerinde temel işlevleri kontrol ettiği bilinmekte ve KB'nin düzenlenmesiyle doğrudan bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda ncRNA'lar, hem sağlık hem de HT gibi hastalık durumlarında transkripsiyon düzenlemesinin kilit noktası olarak kabul edilmektedir. HT'nin; histon modifikasyonu, DNA metilasyonu, kromatin yeniden şekillenmesi ve özellikle çeşitli genlerin ncRNA aracılı hedeflenmesi gibi epigenetik olaylarla düzenlendiği bilinmektedir. Genetik, HT'nin yanı sıra diğer KVH'lerin

patogenezinde de önemli bir rol oynadığından kişiyi yüksek KB'ye yatkın hale getiren genetik katkıların açığa kavuşması büyük önem taşımaktadır. Ancak bilim insanlarının HT patogenezinin anlamak adına gösterdiği çabaya rağmen moleküler düzeydeki pek çok durum halen açıklığa kavuşturulamamıştır. Çeşitli teknoloji ve yöntemler kullanarak HT patogenezinde yeni ncRNA hedeflerinin belirlenmesi, HT gelişimini önlemek ve tersine çevirmek için yeni tedavilerin geliştirilmesine yol açabilecek stratejiler olarak görülmektedir. Günümüzde ncRNA'ların KB regülasyonu ve HT'deki rolünü destekleyen az sayıda çalışma mevcut olmak ile birlikte bu alan nispeten yeni bir alan olarak kabul edilmektedir (Shirazi-Tehrani vd., 2022).

2.3.1. non-coding RNA Çeşitleri

Karmaşık organizmalarda yer alan birçok genomik dizinin gelişimsel ve doku tarafından düzenlenecek şekilde transkribe edildiğinin keşfedilmesi üzerine insan hücrelerinde transkribe edilen farklı ncRNA türlerini karakterize etme ihtiyacı doğmuştur (Esteller, 2011). Böylece ncRNA'lar; transfer RNA (tRNA), ribozomal RNA (rRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA), miRNA, küçük etkileşimli RNA (siRNA), PIWI-etkileşimli RNA (piRNA) ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA) gibi çok sayıda alt sınıflara ayrılmıştır (Şekil 2.7). Ancak yeni tanımlanan ncRNA'ların çoğu, işlevleri açısından henüz net bir şekilde doğrulanmadığından birçoğunun işlevsel olmaması da ihtimal dahilinde bulunmaktadır. Öte yandan ncRNA'ların işlevi ve rolüne ilişkin veriler her geçen gün ortaya çıkmaya devam etmektedir (Santosh vd., 2015).



Şekil 2. 7. RNA'ların sınıflandırması (Santosh vd., 2015).

tRNA'lar ve rRNA'lar gibi çok sayıda kodlamayan transkript, hücrel mekanizmanın kritik bileşenleri olarak kabul edilmektedir (Santosh vd., 2015).

snoRNA'lar, 60 ila 300 baz çifti (bç) uzunluğunda olabilen ncRNA'lar olarak tanımlanmaktadır. rRNA'nın sekansa özgü 2'-O-metilasyonundan ve psödouridilasyonundan sorumlu kompleksler olan küçük nükleolar ribonükleoproteinlerin (snoRNP'ler) bileşenleri olarak görev yapmaktadır. rRNA'ların transkripsiyon sonrası modifikasyonları nükleolusta gerçekleşmekte ve bu sayede rRNA'nın katlanması ile birlikte stabilitesini de kolaylaştırmaktadır. snoRNA'ların dizileri, birleştirilmiş snoRNP'lerin belirli bir hedefe yönlendirilmesinden sorumlu olmaktadır (Esteller, 2011).

lncRNA'lar, birçok biyolojik süreçte yer alan ve 200 nükleotitten (nt) daha uzun olan kodlamayan transkriptlerin heterojen bir grubu olarak tanımlanmaktadır. lncRNA'lar, memelilerde yer alan kodlamayan transkriptomun en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Günümüzde araştırmacılar tarafından, gen ifadesinin lncRNA'lar aracılığı ile transkripsiyonel olarak düzenlenmesine ilişkin çeşitli mekanizmalar önerilmektedir (Esteller, 2011). Ayrıca lncRNA'lar, miRNA'ların üretimine etki ederek mesajcı RNA (mRNA) çevirisini kontrol etmektedir (Santosh vd., 2015). lncRNA grubunun alt sınıflarından biri olan uzun intergenik RNA'lar (lincRNA), intergenik bölgelerden kopyalanmaktadır. Bu transkriptler, transkripsiyonel uzamanın gerçekleştiği bölgelerde aktif transkripsiyonla ilişkili kromatin imzalarının aranması ile tanımlanmaktadır (Esteller, 2011). lncRNA'ların diğer bir alt sınıfı, ultra korunmuş bölgelerden (UCR) transkribe edilmektedir. UCR'ler 200 bç'den daha uzun olan ve insan genomunda tamamen korunmuş olan DNA segmentleri olarak tanımlanmaktadır. Tanımlanmış UCR'lerin bazıları, kodlayıcı ekzonlarla örtüşmekte ancak yarısından fazlasının protein kodlamadığı düşünülmektedir. UCR'lerin %68'i transkripsiyona uğrayarak ncRNA'ların bir alt sınıfı olan transkribe ultra korunmuş bölgeleri (T-UCR) oluşturmaktadır. T-UCR'lerin transkripsiyon birimleri genellikle 2 kilobaza (kb) kadar ulaşmak ile birlikte normal dokularda, dokuya bağlı olarak belirli bir düzende ifade edilmektedir. T-UCR'lerin işlevleri halen anlaşılamamış olsa da bazılarının miRNA'lara bağlandığı gösterilmiştir (Calin vd., 2007). Ayrıca telomerik tekrar içeren RNA'lar (TERRA) olarak bilinen özel bir lncRNA türü, telomerlerden transkribe edilmekte ve telomeraz aktivitesini düzenleyerek telomerik heterokromatinin bütünlüğünü korumaya yardımcı olmaktadır (Esteller, 2011).

piRNA'lar, 24 ila 30 nt uzunluğundaki ncRNA'lar olarak tanımlanmaktadır. Dicer'dan bağımsız olan bu ncRNA sınıfı, germline hücrelerde genom stabilitesinin korunmasında rol oynayan Argonaute (Ago) ailesi proteinlerinin PIWI alt ailesine bağlanmaktadır (Esteller, 2011).

Bahsi geçen alt sınıflara ek olarak genlerin transkripsiyonel başlangıç bölgeleri (TSS) ile ilişkili birçok ncRNA sınıfı da tanımlanmıştır. Bunlar; promotör ilişkili küçük RNA'lar (PASR), transkripsiyonel başlangıç bölgesi ilişkili RNA'lar (TSSa-RNA), promotör upstream transkriptleri (PROMPT) ve transkripsiyon başlatıcı RNA'lar (tiRNA) olarak sıralanabilmektedir. Tüm bu alt kümelerin muhtemelen transkripsiyon düzenlemesine dahil olduğu düşünülmektedir. Biyolojik işlevleri henüz netleştirilmemiştir (Esteller, 2011).

2.4. mikroRNA'lar

En yaygın çalışılan ncRNA sınıfı, hayvanlarda mRNA'nın proteinlere çevirisini kontrol ederek transkripsiyon sonrası gen susturmaya aracılık eden ve yaklaşık 22 nt uzunluktaki miRNA'lardır (Lekka & Hall, 2018). miRNA'lar ilk olarak 1993 yılında iki farklı laboratuvar da eşzamanlı yürütülen birbirlerinden bağımsız çalışmalarda, *Caenorhabditis elegans*'tan elde edilen ve küçük kodlamayan bir RNA transkripti olan lin-4'ün lin-14'ü 3' UTR aracılığıyla düzenlediğinin bildirilmesi sonucunda keşfedilmiştir (Lee, Feinbaum & Ambros, 1993; Wightman, Ha & Ruvkun, 1993). Bu keşif sonrasında sürdürülen yoğun araştırmalar sonucunda miRNA'ların, gen ifadesinin temel düzenleyici unsurları olduğu ve hem sağlık hem de hastalık durumlarında çok çeşitli hücresel süreçlerde yer alan önemli araçlar olduğu anlaşılmıştır (Lekka & Hall, 2018).

Biyoinformatik tahminler ile insan miRNA'larının, transkriptlerin %60'ından fazlasını düzenlediği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra tek bir miRNA, yüzden fazla mRNA'nın ifadesini düzenleyebilmekte ve her mRNA'nın birkaç miRNA tarafından hedeflenebileceği bilinmektedir (Lekka & Hall, 2018). Proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve gelişim de dahil olmak üzere birçok sürecin düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar (Esteller, 2011). Ökaryotiklerde ekspresyonun transkripsiyon sonrası düzenleyicileri olduklarından ve birçok biyolojik süreçte yer aldıklarından dolayı; HT gibi hastalıklar üzerinde potansiyel olarak derin bir etkiye sahip oldukları düşünülmektedir (Shirazi-Tehrani vd., 2022).

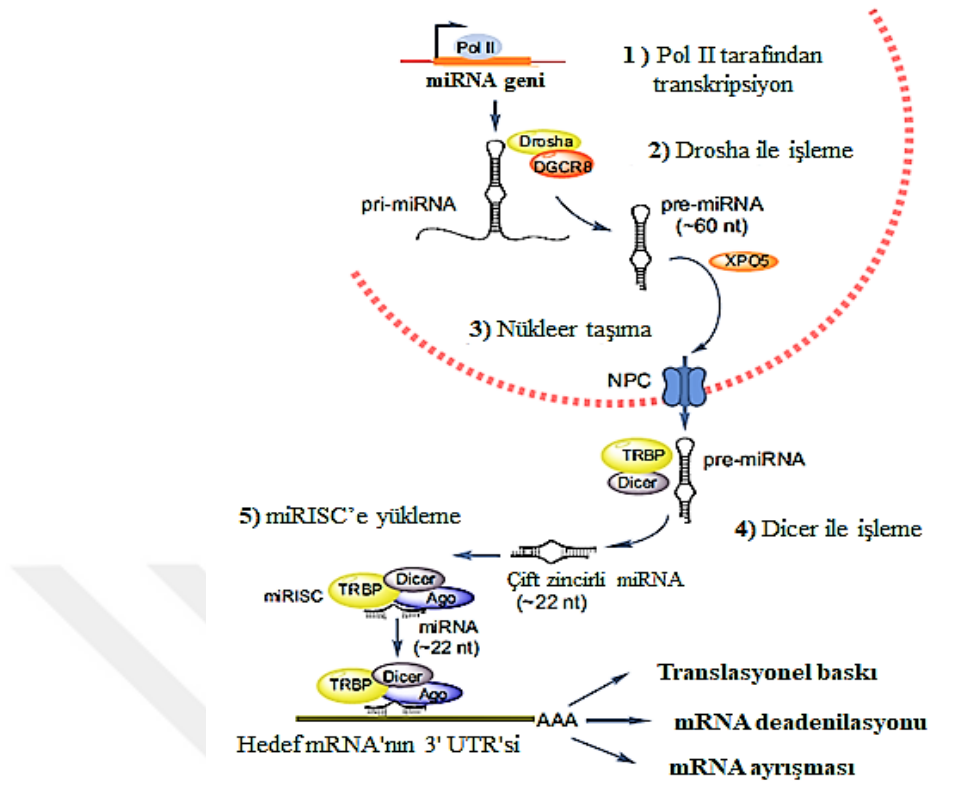
miRNA'lar monosistronik primer transkriptler veya polisistronik primer transkriptlerden gelen kümeler olarak ifade edilmektedir. miRNA genleri, tanımlanmış transkripsiyonel birimlerde veya intergenik bölgelerde bulunmaktadır. İntragenik miRNA'lar ve kodlayıcı genler, aynı promotörü paylaştıkları için genellikle eş zamanlı olarak ifade edilmektedirler (Lekka & Hall, 2018).

miRNA'lar tarafından gen işlevselliğinin düzenlenmesi, baz eşleşmesi yoluyla sağlanmaktadır. Hedef gen çevirisinin stabilizasyonu, genişletilmiş baz eşleşmesi ile teşvik edilirken; kısmi baz eşleşmesi hedef mRNA çevirisinin inhibisyonuna yol açarak öncü mRNA'nın baskılanması ile sonuçlanmaktadır (Santosh vd., 2015). Bu durum, miRNA işlevini terapötik olarak inhibe etmek için antisens oligonükleotidlerin (ASO) kullanılmasına yol açmıştır. ASO'ların miRNA hedeflerini inhibe etmesinin temeli, baz çiftleri arasındaki tamamlayıcılığına dayanmaktadır. Bu bağlamda geliştirilen üç ana ASO sınıfı; kilitli nükleik asitler (LNA), anti miRNA oligonükleotidler (AMO) ve farklı kimyasal modifikasyonlar içeren antagomirler olarak sayılabilmektedir. Antagomirler gibi biyokimyasal ve biyolojik araçlar, miRNA'ların işlevinin aydınlatılmasında faydalı olmakta ve benzer araçların diğer ncRNA'ların işlevinin incelenmesinde önemli olacağı düşünülmektedir (Esteller, 2011).

Dolaşımdaki miRNA'lar dokulardan kaynaklanmaktadır. Bu miRNA'lar serum, idrar, plazma ve kan hücrelerinde stabil olarak bulunmakta ve endojen ribonükleazlara (RNaz) karşı direnç göstermektedir (Shirazi-Tehrani vd., 2022). Vücut sıvılarının kolayca elde edilebilmesine karşın, dolaşımdaki miRNA seviyesinin ölçülmesi konusunda bazı zorluklar ile karşılaşmaktadır. Bu zorluklardan biri, doğru kantifikasyonu engelleyen ve bazen örneklerin bir havuzda toplanmasını gerektiren düşük miRNA konsantrasyonudur. Dolaşımdaki miRNA'ların ölçümü, elde edilen verilerin normalleştirilmesinde kabul edilmiş standartların olmaması nedeniyle teknik zorluklar da yaratmaktadır. Dolaşımdaki miRNA konsantrasyonlarını ölçmek için kullanılan en yaygın tekniğin, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (quantitative polymerase chain reaction / qPCR) ile göreceli kantifikasyon olduğu söylenebilmektedir. Göreceli kantifikasyon yönteminde kullanılan housekeeping genler, hem sağlık hem de hastalık durumlarında benzer seviyelerde ifade edildiğinden ilgili genin ekspresyon miktarına karşı referans olarak kullanılmaktadır (Marques vd., 2015).

2.4.1 mikroRNA'ların Biyogenezi

miRNA'ların biyogenezi, RNase III enzimleri olan Drosha ve Dicer'i içeren çok aşamalı bir süreçtir (Şekil 2.8). Bu sürecin sonucunda yaklaşık 22 nt uzunluğundaki olgun miRNA'lar üretilmektedir (Esteller, 2011). miRNA'ların transkripsiyonları, Pol II tarafından yönlendirilmektedir. İlk olarak primer transkript miRNA (pri-miRNA), 5' uçtan eklenmiş ve poliadenillenmiş birincil transkriptleri üretmektedir. pri-miRNA, DGCR8/Pasha proteinleri ile birlikte RNaseII endonükleaz III Drosha enzimi tarafından prekürsör-miRNA (pre-miRNA) olarak bilinen 60 ila 70 nt uzunluğundaki saç tokası formuna dönüşmektedir. Meydana gelen bu pre-miRNA'lar, daha sonra RanGTP bağımlı nükleer taşıyıcı exportin-5 (XPO5) tarafından sitoplazmaya taşınmakta ve endonükleaz sitoplazmik RNaz III enzimi olan Dicer tarafından işlenmektedir. Dicer-TARBP2 (Trans-Activation-Responsive RNA-Binding Protein / Trans-Aktivasyona Duyarlı RNA-Bağlayıcı Protein) kompleksi tarafından bir Ago çekirdek protein bileşenine yüklenmesi ile RNA-İndüklenmiş Susturma Kompleksi (RISC) oluşmakta ve dubleks içine gömülü 18 ila 25 nt uzunluğundaki olgun miRNA elde edilmektedir. Oluşan miRNA dubleksinden yolcu iplik çıkarılırken, kılavuz iplik Ago'ya bağlı kalarak RISC'yi hedef mRNA'lara yönlendirmektedir (Lekka & Hall, 2018; Esteller, 2011). Bu yönlendirme, miRNA'ların hedeflenen mRNA'daki 3' UTR'de bulunan tamamlayıcı bağlanma bölgelerine RISC aracılığı ile kısmen ya da tamamen hibridize olması ile gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda hedef genlerin ekspresyonu azalmakta ve mRNA degradasyonu veya translasyonel inhibisyon meydana gelmektedir (Lekka & Hall, 2018).



Şekil 2. 8. mikroRNA'ların biyogenezi (Lekka & Hall, 2018).

Hem miRNA'ların RISC'ye yüklenmesi hem de miRNA mekanizmasının işlevi; sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (Esteller, 2011). miRNA'lar yalnızca gen ifadesini baskılamak ile kalmayıp hedeflenen mRNA'ların translasyonunu da indükleyebilmektedir (Lekka & Hall, 2018). Ayrıca miRNA'ların daha büyük miRNA'lara bağlandığı ve bu miRNA'ları düzenlediği de gösterilmiştir. Bunların yanı sıra mRNA'ları düzenledikleri gibi benzer şekilde intergenik ncRNA seviyelerini düzenledikleri de söylenebilmektedir (Marques vd., 2015).

2.4.2 Dolaşımdaki mikroRNA'ların Kardiyovasküler Hastalıklar ve Hipertansiyon ile İlişkisi

Artan sayıda çalışma, ncRNA ifadesinde saptanan anormallikler ile insan hastalıkları arasındaki ilişkileri ortaya çıkarmaktadır. Bu ilişkiler, genellikle belirli bir miRNA veya miRNA imzası ve seçilmiş bir hastalık ya da patolojiye odaklanmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalardan elde edilen veriler, miRNA'ların KVVH'de kilit rol oynadığını göstermektedir (Esteller, 2011). Son yıllarda bazı miRNA'ların bazı KVVH'ler

için biyobelirteç olarak rol oynadığı bulunmuş ve spesifik miRNA'ların HT gelişimi sırasında farklı şekillerde ifade edildiği gösterilmiş olsa da; bu miRNA'ların ekspresyon düzeyleri farklı yayınlar arasında tutarlı bir şekilde saptanmamıştır (Shirazi-Tehrani vd., 2022). Bunların yanı sıra yapılan bazı çalışmalar sonucunda miRNA'ların; KY, hipertrofi ve iskemi reperfüzyon hasarı ile ilişkili sinyal yollarındaki genlerin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Lekka & Hall, 2018). Ek olarak miRNA ekspresyon modelinin kardiyak disfonksiyonda değiştiği saptanmıştır (Santosh vd., 2015; Yildirim, Akman, Catalucci & Turan, 2013).

miRNA'lar, HT'de en iyi karakterize edilen ve üzerinde en çok çalışılan ncRNA grubu olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda miRNA ekspresyonlarının HT ile ilişkilendirilmesi söz konusu olmuştur. Elde edilen veriler, ncRNA'ların HT'deki çeşitli süreçleri etkileme özellikleri nedeniyle bu moleküllerin HT'de potansiyel olarak hem biyobelirteç hem de terapötik hedef olarak düşünülebileceğini göstermektedir (Shirazi-Tehrani vd., 2022).

Dolaşımdaki miRNA'ların HT için biyobelirteç olarak kullanıldığına dair halen çok az sayıda kanıt bulunmaktadır. HT, kanser ve KY gibi diğer alanlardaki ilerlemelerin gerisinde kalmıştır. Dokuları ve farklı hücre tiplerini ayırt eden eksozomal membran belirteçlerinin tanımlanması gibi daha büyük örnek boyutları ve metodolojideki gelişmeler ile bu durumun önümüzdeki yıllarda değişeceği öngörülmektedir. Böylece dolaşımdaki eksozomların ve dolayısıyla miRNA'ların nereden geldiğinin ve potansiyel rollerinin belirlenebileceği düşünülmektedir. Ayrıca dolaşımdaki eksozomların incelenmesinin, kompartmanlar ve hücre-hücre arası sinyalleşmeler hakkında şu anda sınırlı olan bilgileri büyük ölçüde genişletmesi beklenmektedir (Marques vd., 2015).

2.4.3. Dolaşımdaki mikroRNA'ların Tedavi Potansiyeli

miRNA'ların ve lncRNA'ların çeşitli işlevleri, tedavi alanında RNA interferans (RNAi) için klinik çalışmalarda yaşanacak gelişmelerin önünü açmıştır. İlaç geliştirmede uygulanan yeni stratejiler, up regüle edilen ncRNA'ların baskılanması veya inhibe edilmesi üzerinde durabilecektir. Alternatif olarak ncRNA'ların normalden az ekspresyonu veya hiç eksprese edilmemesi durumunda; ncRNA'ların aşırı ekspresyonu veya sentetik ncRNA'lar kullanılarak mevcut olan durum değiştirilebilecek veya geliştirilebilecektir. ncRNA'ların geleneksel ilaç moleküllerine göre sağladığı avantajlar;

ilgilenilen herhangi bir gen üzerindeki etkileri ve bazı geleneksel ilaç moleküllerinin erişemediği gen baskılama potansiyelleri olarak tanımlanmaktadır. ncRNA'ların KVH'lerde, özellikle de HT'de uygulanması, bu tür hastalıkların akıllı tedavisi için yeni bir alan açabilecektir (Shirazi-Tehrani vd., 2022).

2.5. Eksozomlar

HücreSEL mikroçevrede hücreler; hücre-hücre etkileşimi, spesifik parakrin faktörler veya hücre dışı veziküller yoluyla iletişim kurmaktadır. Ekstrasellüler vezikül (EV), hücrelerden salınmakta olup tipik olarak lipidler, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif moleküller içeren lipid çift katmanlı veziküllerin bir ailesi olarak tanımlanmaktadır (Nguyen vd., 2021). EV'ler; oluşum yollarına, boyutlarına ve içeriklerine bağlı olarak sınıflandırılabilir. Bu sınıflandırma genel olarak; eksozomlar, mikro veziküller (MV) ve apoptotik cisimler şeklinde yapılmaktadır. EV'lerin bileşimi; hücre tipine, hastalık durumuna veya oluşum sırasındaki uyarana bağlı olarak değişir iken iç bileşimi hücreler arası iletişimin sonucunu belirlemektedir (Henning, 2021).

EV'lerin, MV'lerin ve apoptotik cisimlerin; boyut, içerik, biyogenez ve fonksiyona bağlı olarak değişen alt tipleri bulunmaktadır (Nguyen vd., 2021). Çapları yaklaşık 30 ila 100 nm arasında değişen ve yoğunlukları 1,10–1,20 gram/mililitre (g/mL) olan eksozomlar; EV'lerin alt tipi olup hücre endozomları içinde üretilen nanoveziküller olarak tanımlanmaktadır (Henning, 2021; Nguyen vd., 2021). Eksozomlar ilk olarak 1983 yılında Johnstone ve arkadaşları (Pan & Johnstone, 1983) tarafından retikülosit olgunlaşmasının araştırılması sırasında küçük endozom türevi veziküllerin salgılanmasının tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır (Zamani, Fereydouni, Butler, Navashenag & Sahebkar, 2019). Başlangıçta hücre atığı olarak kabul edilen eksozomlar; hücre dışı cisimler, pul pul dökülmüş veziküller, mikropartiküller vb. isimlendirmelere maruz kalmıştır. Ancak daha sonra tıp alanında teknolojinin gelişmesini takiben hücreler arası iletişim için önemli bir araç oldukları anlaşılmıştır (Zhang & Huang, 2021).

Son yıllarda hücreler arası etkileşim kurma yetenekleri, hastalıkların teşhisi ve terapötik potansiyelleri nedeniyle eksozomlara karşı yoğun bir ilgi söz konusu olmaktadır. Bu alana gösterilen yoğun ilgi sonucunda eksozomların hücrelerden salınmalarını takiben hem patolojik hem de fizyolojik süreçlerde yer alan moleküler

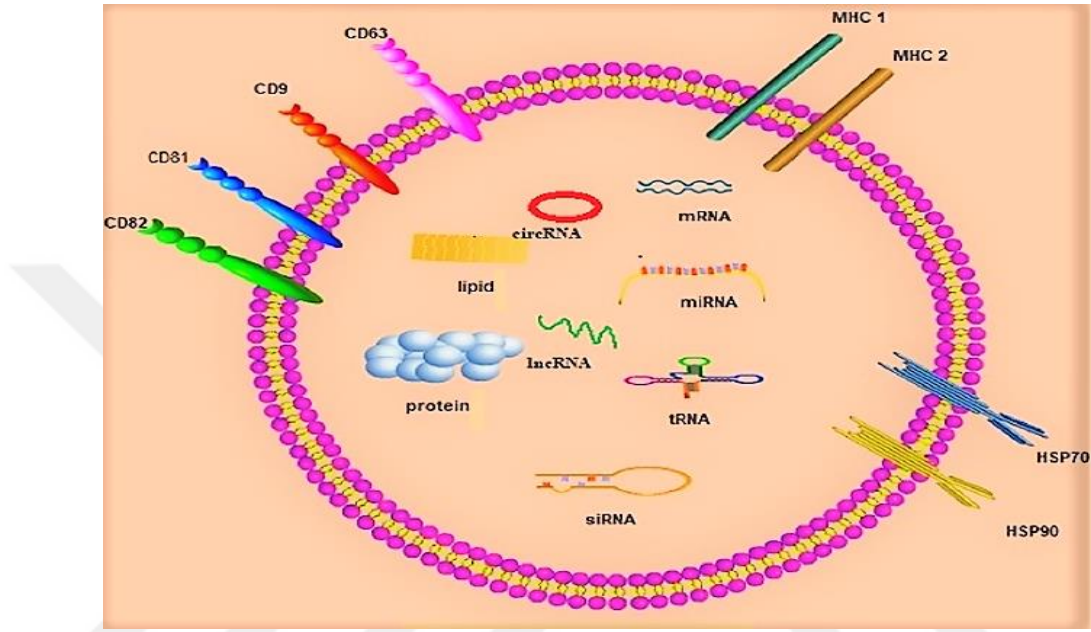
içeriklerini, alıcı hücrelere aktararak hücre içi sinyalleşmeye aracılık ettikleri ve bu durumun fonksiyonel değişime neden olduğu keşfedilmiştir. Eksozomlar, komşu hücrelere parakrin sinyalleme ve uzak hücrelere endokrin sinyalleme aracılığı ile etki edebilmektedir (Nguyen vd., 2021).

Eksozomların tipik içeriği; DNA, RNA, mRNA, miRNA, lipidler, proteinler, aminoasitler ve metabolitler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif molekülleri kapsamaktadır. Bunların yanı sıra eksozom içeriğinde; büyüme faktörleri, transkripsiyon faktörleri ve sitokinler de tanımlanmıştır. Ayrıca eksozomlar; hücre plazma zarı, çekirdek, mitokondri, ER, endozomlar ve golgi aygıtından gelen 350 ila 400 kadar protein içerebilmektedir. Hücre-hücre etkileşimi ve hücreler arası iletişime aracılık etme açısından özellikle önemli olup hücreler arası genetik bilgi aktarımı yeteneğine sahiptirler. Aynı zamanda biyolojik sıvıların içerisinde mevcut olup izole edilebilmektedir (Henning, 2021).

Eksozomlar fonksiyonlarını kolaylaştıran proteinle zenginleştirilmiş bir lipid çift tabakası ile sarılı halde bulunmaktadır. Eksozomların sahip olduğu bu çift lipid tabakasının bileşenleri endositik kökenleri nedeniyle köken aldıkları ana hücrelerinkine benzer moleküler özellikler içermektedir. Bu nedenle köken aldıkları hücre tipini ve hücrenin fizyolojik durumunu, sağlıklı veya patolojik olmak üzere temsil etmektedirler. Aynı hücre tipinden köken alan eksozomların büyük ölçüde heterojenlik gösterdiği bilinmektedir. Bu durum eksozomların oldukça çeşitli sayıda olduğunu göstermektedir. Eksozom yapısını konu alan moleküler çalışmaların çoğu, sağlıklı durumlarda alınan eksozomlarla sınırlı olmakta ve çok azı hastalık durumundaki eksozomlara odaklanmaktadır. Bununla birlikte köken aldıkları ana hücreden bağımsız olarak eksozomlar, belirli zar proteinlerini eksprese etmektedir (Nguyen vd., 2021).

Eksozom lipid çift tabakasının yüzeyi; tetraspaninler, ısı şok proteini (HSP), taşıma için gerekli endozomal ayırma kompleksi (ESCRT), yapışma proteinleri ve eksozom fonksiyonunu kolaylaştıran diğer zar proteinleri ile zenginleştirilmiştir. Tetraspaninler eksozom membranında bol miktarda eksprese edilmekte ve sıklıkla eksozom belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Farklı hücre soylarından gelen eksozomlar, farklı belirteçleri eksprese etmektedir. Ancak söz konusu hücreye özgü belirteçler hakkındaki bilgi eksikliği nedeniyle eksozomları farklı hücre tiplerinden ayırt etmek

halen zorluk yaratmaktadır. Transmembran proteinleri, alıcı hücreye eksozom göçü, yapışma ve füzyon olaylarını düzenlemektedir. Eksozomların yüzeyinde bulunan diğer bir anahtar protein, majör histokompatibilite kompleksidir (major histocompatibility complex / MHC) (Şekil 2.9). Biyogenez sırasında diğer proteinler de eksozomun membran zarına dahil edilmektedir (Nguyen vd., 2021).



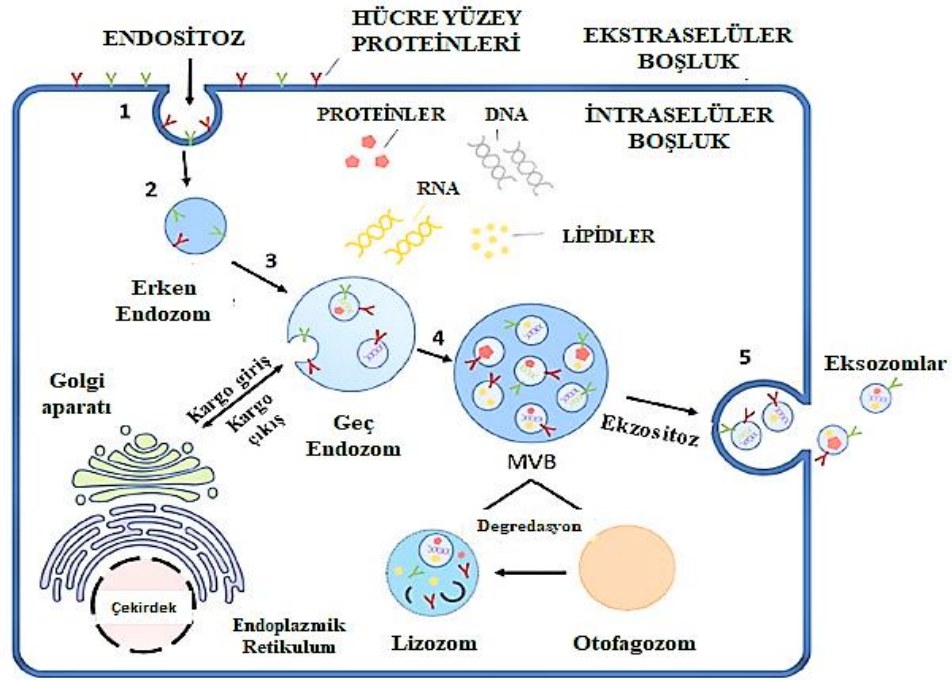
Şekil 2. 9. Eksozom yapısı (Wang vd., 2019).

2.5.1. Eksozomların Biyogenezi

Eksozom biyogenezinin uyarılmasında birçok faktör etkin olmaktadır (Şekil 2.10) (Nguyen vd., 2021). Eksozomların oluşumu; erken endozomlar, geç endozomlar ve sekresyonlar olarak sıralanabilmektedir (Zhang & Huang, 2021). İlk plazma zarı istilası sonucunda, spesifik hücre zarı proteinleri ile zenginleştirilmiş erken endozomlar oluşmaktadır. Erken endozomlar, bağımsız olarak var olabildiği gibi önceden var olan erken endozomlarla da birleşebilmektedir (Nguyen vd., 2021). Erken endozomların oluşumu için iki yol mevcuttur. Bu yollar, plazma membranına geri dönüşümünü ve endozomal membranın içe doğru germinasyon yaparak geç endozomların veya multiveziküler cisimlerin (MVC) oluşumunu kapsamaktadır. MVC'lerin oluşumunun ardından hedeflenen iki durum söz konusu olmaktadır. Bu durumlardan biri bozunma için

lizozomlarla füzyon olaylarını kapsamakta olup diğeri ise plazma membranı ile füzyon sonucu gerçekleşen ekzositoz olarak tanımlanmaktadır (Zhang & Huang, 2021).

Eksozomun hedeflediği spesifik hücrelerin plazma zarına füzyonu, eksozom içeriğinin hedef hücrenin sitoplazmasına boşaltılmasını sağlamaktadır. Bu boşaltım sonucunda hedef hücrenin fonksiyonu ve fenotipi değiştirilebilmektedir (Henning, 2021). Plazma zarının ikinci içe doğru invaginasyonunu kapsayan ve intraluminal vezikülleri (ILV) içeren MVC'lerin, üretim süreci olan geç endozom formuna olgunlaşma süreci meydana gelmektedir. Bu süreç sırasında proteinler, lipidler, nükleik asitler ve diğer biyoaktif moleküller; ILV'lere dahil edilmektedir. Bu aşamada golgi aygıtı ve ER, biyoaktif moleküllerin MVC'lere paketlenmesinde rol oynamaktadır. Tek bir MVC genellikle çok sayıda ILV içermektedir. MVC'lerin çoğu, hücre plazma zarı ile kaynaşmakta ve ILV'leri hücre dışı ortama salgılamaktadır. Hücre dışı ortama eksozom olarak adlandırılan ILV'lerin salgılanması, MVC'lerin plazma zarına taşınmasını sağlamaktadır. Aktin bağlayıcı bir protein olan kortaktinin yıkımı, eksozom salınımının azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca guanin nükleotid bağlayıcı proteinler (Rab GTPaz) gibi birkaç protein de eksozom salgılanmasına katkıda bulunmaktadır. Çözünür N-etilmaleimide duyarlı füzyon bağlanma proteini reseptörleri (SNARE), MVC'lerin plazma zarı ile kaynaşmasını sağlamaktadır. Öte yandan ESCRT yolunun eksozom biyogenezinde ve salgılanmasında yüksek oranda yer aldığı kabul edilmektedir (Nguyen vd., 2021). ESCRT, ILV membranının tomurcuklanma sürecine katılmaktadır. Bu sayede güçlü bir tanıma alanı oluşmakta ve endozomal ubikitin substratı için yüksek afinite sağlanmaktadır. Böylece membran germinasyonu meydana gelmektedir. ESCRT; ESCRT -0, -I, -II, -III vb. şekillerde tanımlanmış olup dört temel yapı halinde birleşen ve yaklaşık 20 proteinden oluşan evrimsel olarak korunmuş bir protein ailesini temsil etmektedir (Nguyen vd., 2021; Zhang & Huang, 2021). ESCRT-0, ubiquitine bağlı olarak kargo sınıflandırmasına katılmakta; ESCRT-I ve ESCRT-II, membran tomurcuklanmasında görev almakta; ESCRT-III ise vezikülün zardan ayrılmasından sorumlu olmaktadır (Zamani vd., 2015). Günümüzde ESCRT'den bağımsız bir yolun eksozom biyogenezinde rol oynayabileceği bilinmektedir. Tetraspanin proteinlerinin, ESCRT yolundan bağımsız olarak eksozom biyogenezinde katılma durumu da göz önüne alınmakta ancak bu durum büyük ölçüde hücre tipine bağlı olarak gerçekleşmektedir (Nguyen vd., 2021).



Şekil 2. 10. Eksozomların biyogenezi (Nguyen vd., 2021).

Eksozomların alım süreci; alıcı hücreleri hedefleme, alıcı hücrelere girme ve eksozom yükünün hücreye salınması olmak üzere üç aşama şeklinde meydana gelmektedir. Öte yandan eksozomların alımının aynı tip hücrelerle sınırlı olmadığı bilinmektedir. Alıcı hücreler tarafından tanımlanmış, doğrudan füzyon ve reseptör-ligand etkileşimi aracılığı ile eksozom alımının iki mekanizması mevcut olup bu mekanizmaların sinyal yolları belirsizliğini korumaktadır. Reseptör-ligand etkileşim yolu genellikle, eksozom yüzey proteinleri alıcı hücrenin plazma zarı üzerindeki moleküller ile etkileşime girdiğinde endositoz yoluyla gerçekleşmektedir. Bu moleküller arasında integrinler, proteoglikanlar, lektinler veya diğer sfingolipid/kolesterol alanları bulunmaktadır. Aynı zamanda bahsedilen bu süreç, kltrin bağımlı veya kltrin bağımsız bir yol ile gerçekleşmektedir (Nguyen vd., 2021). Ek olarak, eksozomun membran yüzeyi, hücreye eksozom girişi olmaksızın alıcı hücre yüzeyindeki reseptörler/ligandlar ile etkileşime girerek hücre içi sinyal yollarını başlatabilmektedir. Hedef hücreler tarafından eksozom alımının çeşitli mekanizmaları, hem eksozom bileşimindeki farklılıklardan hem de alıcı hücrelerin sahip olduğu plazma zarının spesifik yapısından kaynaklanabilmektedir (Henning, 2021).

2.5.2. Eksozomların İzolasyonu Ve Karakterizasyonu

Eksozomlar; plazma, idrar, eklem sıvısı, beyin-omurilik sıvısı, burun salgıları, amniyotik sıvı, meni, safra, tükürük, bronkoalveolar lavaj ve hücre kültürü ortamı dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sıvılardan izole edilebilmektedir. Ancak bu biyolojik sıvılar, farklı kökenlerden gelen eksozomları içereceğinden downstream analizinden önce etkili karakterizasyonun gerçekleştirilmesi oldukça büyük önem taşımaktadır. Ultrasantrifüj, filtrasyon, immünoafinite, çökeltme ve kromatografi dahil olmak üzere eksozomları izole etmek amacı ile çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler; boyut, kütle, afinite ve yoğunluk gibi parametrelere dayanmaktadır (Nguyen vd., 2021). Diferansiyel ultrasantrifüjleme, günümüzde eksozomların izolasyonu için en yaygın kullanılan yöntem olarak tanımlanmaktadır. Ancak ultrasantrifüjleme yöntemi ile izole edilen eksozomlar, MV'leri veya lipitleri de içerebilmekte ve eksozomların yapısı, ultrasantrifüjleme ile zarar görebilmektedir (Henning, 2021). Öte yandan bahsedilen yöntemler ile numunenin izolasyonu gerçekleştirilse de tamamen saf bir izolasyon sağlayabilmek önemli bir zorluk olarak görülmekte ve çalışma verilerinde değişkenliklere yol açabilmektedir. Bu değişkenliği minimuma indirmek için izolasyonun ardından başarılı bir ayırma sağlayarak izole edilmiş eksozomları karakterize etmek ve ölçmek önem arz etmektedir (Nguyen vd., 2021).

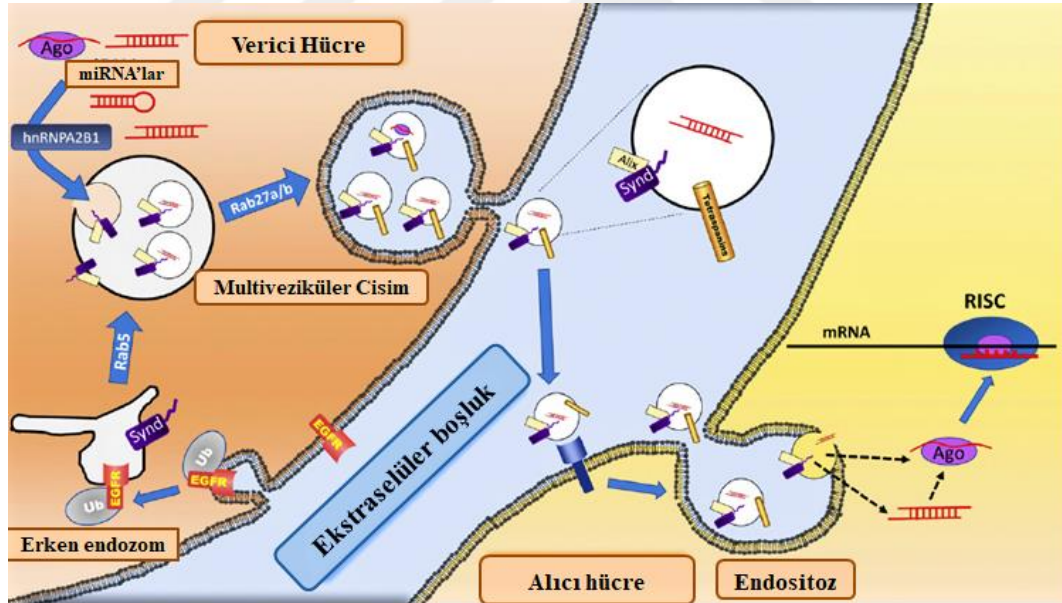
Eksozomların varlığını saptamak için altın standart transmisyon elektron mikroskobu (TEM) olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemin uygulanması zaman almak ile birlikte birtakım dezavantajlara sahip olmaktadır. Geleneksel akım sitometri yöntemi, belirli dalga boyunda bir lazer ışını sayesinde uygulanabilen bir diğer yaygın teknik olarak sayılabilmektedir. Bu tekniklerin yanı sıra atomik kuvvet mikroskopisi (AKM), numunede mevcut olan eksozomların morfolojisini, konsantrasyon bimoleküler içeriğini ve biyomekaniklerini belirleyebilmektedir. Dinamik ışık saçılımı (DIS) tekniği ise, monokromatik bir lazer ışınının eksozom parçacıklarının süspansiyondan geçirilmesini kapsayan bir yöntem olmak ile birlikte eksozomların boyutunu ölçebilmektedir (Nguyen vd., 2021).

Günümüzde eksozomları konu alan araştırma alanı, eksozomların izolasyonu ile ilgili dikkat edilmesi gereken hususlarla ve uygun bir çözünürlük altında eksozomları in vivo izleme yeteneği ile sınırlı olmaktadır. Ancak tüm bu sınırlamalara rağmen gün

geçtikçe büyük ölçüde güvenilir kabul edilen veriler ortaya çıkmaya devam etmektedir (Nguyen vd., 2021).

2.6. Eksozomal mikroRNA'lar

EV'lerle ilişkili RNA'yı tanımlamak için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. 2007 yılında Valadi ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile EV'lerin RNA moleküllerini içerdiği bildirilmiştir (Valadi vd., 2007). Öncü niteliğindeki bu çalışmada, mikroarray analizinden yararlanılarak fare mast hücre hattı MC/9'dan elde edilen EV'lerin yaklaşık 1300 geni kodlayan mRNA içerdiği gösterilmiştir. Araştırmacılar bu çalışma sonucunda EV'lerde mRNA'yı tespit etmenin yanında miRNA'lar dahil küçük RNA moleküllerinin varlığını da saptamışlardır. Ayrıca araştırmacılar, RNA'nın yalnızca EV'lerde hücre dışına taşınmakla kalmayıp aynı zamanda RNA içeren EV'lerin diğer hücreler tarafından alınabildiğini ve mRNA'yı işlevsel olarak proteinlere çevirebildiğini göstermiştir (Şekil 2.11) (La Salvia, Gunasekaran, Byrd & Erdbrügger, 2020a).



Şekil 2. 11. mikroRNA içeren eksozomların oluşumu, salınımı ve alımının genel mekanizması (Das & Halushka, 2015).

Birçok çalışma eksozomların çok sayıda miRNA içerdiğini saptamış ancak miRNA'ların eksozomlara girme mekanizması nadiren rapor edilmiştir. 2013 yılında Carolina ve arkadaşları (Villarroya-Beltri vd., 2013), miRNA'ların kısa dizi motifleri

içerdiğini, eksozomlara miRNA yüklenmesine rehberlik ettiğini ve hedeflenen mutasyonlarının veziküllerdeki miRNA kargosunu düzenleyebileceğini bildirmiştir (Zhang & Huang, 2021). Hücre tiplerine ve belli koşullara bağlı olarak yalnızca proteinler ve miRNA'lar gibi belirli kargoların eksozomlara yüklenmesi, kargo sınıflandırmasının seçici ve sıkı bir şekilde düzenlendiği hipotezini düşündürmektedir. Bu süreçte yer alan sinyal basamaklarının çözülmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Nguyen vd., 2021).

Eksozomlar, miRNA'ların taşıyıcıları olarak hareket etmektedir. Plazma, serum, idrar ve tükürükte bulunan çeşitli miRNA'ların seviyelerinde saptanan değişiklikler farklı hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Köken aldıkları ana hücrenin mikro çevresinde mevcut olan bazı uyaranlar veya değişiklikler, miRNA'ların eksozomlara yüklenmesini düzenleyebilmektedir. Dolayısı ile farklı hücrelerden kaynaklanan eksozomların içerikleri değişmekte ve moleküler bileşimleri, köken aldığı orijinal hücrelerin özel işlevlerini yansıtmaktadır. Farklı hastalıklarda, eksozomların ekspresyon düzeyleri de farklı olmak ile birlikte spesifik biyofiziksel özellikleri, in vitro araştırma ve manipülasyonlar için uygun özellikler olarak tanımlanmaktadır (Zhang & Huang, 2021). Ayrıca eksozomal miRNA'lar, hastalığın farklı evreleri arasında ayırım yapılabilmesine izin vermektedir (Jiménez-Avalos vd., 2021). Bu bağlamda yapılan birçok çalışma sonucunda enflamatuar uyaranların, hastalığın ilerlemesi durumunda alıcı hücrelerde gen ekspresyonunu düzenlemek için miRNA'ların eksozomlara aktif yüklenmesini indükleyebileceği bildirilmiştir (Tan vd., 2021). Böylece miRNA'ların belirli hastalıklar için tanısal belirteçler veya terapötik hedefler olabileceği düşüncesi gündeme gelmiştir (Zhang & Huang, 2021).

Eksozom kaynaklı miRNA'lar; tümör teşhisi, bağışıklık tepkisi, KVH, akut organ hasarı, rejeneratif tıp ve kök hücre tedavisi gibi birçok patolojik ve fizyolojik durumda birden fazla işlevi yerine getirebilmektedir. Ek olarak vücut sıvılarında biyobelirteç potansiyeli taşıyan eksozomların varlığı, hastalıkların erken saptanmasına yardımcı olma potansiyeli de taşımaktadır (Zhang & Huang, 2021). Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, eksozomların enflamatuar sitokinlerin salınmasında ve enflamatuar yanıtların aşırı aktivasyonunda hücreler arası iletişimin önemli bir aracı olarak rol aldığını göstermektedir. Ayrıca bahsedilen hücreler arası iletişim, kalp-damar hastalıklarının gelişimi ile yakından ilişkilendirilmektedir (Wang vd., 2019).

Eksozom kökenli miRNA'lar, tanı belirteçleri ve terapötik hedefler olarak rapor edilmiş olsa da yeni bir alan olduğundan bazı sorunlar ile karşı karşıya kalınmaktadır. Eksozomlar son derece küçük moleküllerdir ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar altında incelenmesi zorluk yaratmaktadır. Diğer taraftan dokularda ve sıvılarda bulunan veziküllerin dinamik salınımı ve alımı, eksozom araştırmalarında bazı zorluklar yaratmaktadır. Bunların yanı sıra eksozom kaynaklarının seçimi, saflaştırma koşullarının iyileştirilmesi, hedefleyici peptitlerin kullanımı, farmakokinetik özelliklerin belirlenmesi ve ilaçların eksozomlar üzerindeki etkisi; üstesinden gelinmesi gereken sorunlar olarak sayılabilmektedir (Zhang & Huang, 2021).

Eksozomal miRNA'ların kullanımı birçok sorun teşkil etse de sağladığı avantajlar göz önüne alındığında, hastalıkların tanı ve tedavisi için önemli bir temel oluşturduğu açıkça anlaşılmaktadır. Eksozomların in vivo fizikokimyasal stabilitesi ve çok boyutluluğu, terapötik ilaçlar için mükemmel modeller olduklarını göstermektedir. Örneğin kök hücreler, tümör oluşturma potansiyelleri nedeniyle ciddi güvenlik riskleri oluşturabilmekte ancak kök hücreden köken alan eksozomların bu anlamda bir etkisi bulunmamaktadır. Böylece kök hücre kaynaklı eksozomal miRNA'ların, düşük immünojenisiteye sahip olmak ile birlikte güvenlik açısından avantaj sağladığı söylenebilmektedir (Zhang & Huang, 2021).

Mevcut prosedürlere göre eksozomlar, laboratuvar ortamında seri şekilde üretilmektedir (Zhang & Huang, 2021). Eksozomal miRNA'lar, sıcaklık ve pH'daki değişiklikler gibi zorlu koşullarda yüksek stabiliteleri ve RNaz aktiviteleri sayesinde bozulmaya karşı dirençli olmaktadır (Jiménez-Avalos vd., 2021). Bu özelliklerinin yanı sıra tekrarlanan donma-çözülme döngülerine ve oda sıcaklığında uzun süreli inkübasyon gerektiren koşulların neden olabileceği bozulmalara karşı dirençlidirler (Tan vd., 2021). Bu nedenle eksozomal miRNA'lar, biyobelirteç potansiyeli açısından serbest miRNA'lara kıyasla daha avantajlı görünmektedir (Jiménez-Avalos vd., 2021).

Eksozomal miRNA'ların vücut sıvılarında sahip olduğu stabilite ve HT patofizyolojisini düzenleme kabiliyeti; HT'nin teşhisi ve takibi için uygun biyobelirteçler olduğunu göstermektedir (Mitchell vd., 2008; Tan vd., 2021; Turchinovich, Weiz, Langheinz, & Burwinkel, 2011).

2.7. Biyobelirteçler

Model sistemleri, hayvanları ve insanları konu alan araştırmalara yönelik çeşitli ölçümleri gerçekleştirme becerisinin giderek artması, hastalık ve sağlık durumları için potansiyel biyobelirteçlerin açığa çıkarılmasının hedeflendiği bir alanı meydana getirmiş ve zamanla bu durum araştırma amacının ötesine geçerek; tıbbi ürün geliştirme, klinik uygulama, beslenme ve çevre politikalarının geliştirilmesine kadar uzanmıştır. Ancak bu kapsamlı alan, yararlı teşhis ve tedavi teknolojilerinin geliştirilmesine yönelik ilerlemeyi yavaşlatan ve hatta durduran bir etki altında kalmıştır. Bu etki, biyobelirteç tanımı için ortak bir paydada karar kılınamamasından kaynaklanmaktadır (Califf, 2018).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration / FDA) ve Ulusal Sağlık Enstitüleri'nin (National Institutes of Health / NIH) ortak liderlik konferansında, her bir liderin biyobelirteç tanımlaması hakkında farklı düşüncelere sahip olduğu görülmüştür. Bu soruna karşın çözüm üretmek adına ortak tanımların belirlenmesi hedeflenmiştir. Böylece sürekli güncellenen çevrimiçi bir veritabanı olarak planlanan Biyobelirteçler, Son Noktalar ve Diğer Araçlar (Biomarkers EndpointS and Other Tools / BEST) oluşumu kurulmuştur (Food and Drug Administration, & National Institutes of Health, 2016). Kurumların BEST ile amaçladığı konsept, bir biyobelirteç ile o biyobelirtece uygun amacı eşleştirme konusundaki kolektif yeteneği geliştirmek ve böylece yararlı teşhis ve tedavi için teknoloji stratejilerinin geliştirilmesine hız, verimlilik ve hassasiyet sağlamaktır. Bu amaçların yanı sıra BEST ile halk sağlığı politikalarının geliştirilmesi ve uygulanmasına fayda sağlanacağı düşünülmektedir (Califf, 2018).

Biyobelirteç en yalın hali ile; normal biyolojik süreçlerin, patojenik süreçlerin veya bir maruziyet veya müdahaleye verilen yanıtların göstergesi olarak ölçülen tanımlanmış bir özellik olarak ifade edilmektedir (Califf, 2018). Biyobelirteçler, klinik sonuç değerlendirmesi (KSD) olarak bilinen ve bir ölçüm kategorisi olan; bireyin nasıl hissettiğine, işlev gördüğüne veya hayatta kaldığına dair doğrudan ölçümlerden ayrılmaktadır. KSD'ler, hastalar için doğrudan önemli olan sonuçları ölçmekte ve terapötiklerin ruhsatlandırma onayı için standartları karşılamak üzere kullanılabilir. Buna karşın biyobelirteçler, çeşitli amaçlara hizmet etmektedir. Biyobelirteçler ve KSD'ler, klinik çalışmalarda son nokta olarak kullanıldıklarında karmaşıklık yaratmakta ve buna bağlı olarak bilimsel titizlik ihtiyacı ortaya çıkmaktadır.

Son nokta olarak kullanılmadığı takdirde bir biyobelirteç araştırması, bilimsel ve teknolojik kavramların genel gelişimini sağlayabilmek adına daha az spesifik bir yapı ortaya koyabilmektedir. Ancak klinik çalışma son noktası olarak kullanıldığında güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için net bir tanımlama gerekmektedir (Califf, 2018).

Biyobelirteçleri tanımlamadaki amaçlardan bir diğeri; düşük maliyet ile güvenilir, kesin ve tekrarlanabilir bir şekilde ölçüm yapmayı sağlayan doğrulama yöntemleri geliştirmektir. Yapılan tahliller çoğu zaman biyobelirteç ile doğrulanmamakta ve biyobelirteç değeri hakkında yanıltıcı varsayımlara yol açmaktadır. Buna karşın ölçüm yöntemleri gelişmeye devam ettikçe bireysel tanı biyobelirteçlerinin değerinin daha iyi anlaşılabilceği öngörülmektedir (Califf, 2018).

Biyobelirteçlerin öngörülen uygulamalarına göre çeşitli alt türleri tanımlanmıştır. Bunlar; izleme, farmakodinamik, öngörücü, prognostik, güvenlik, duyarlılık, tanısal ve dijital biyobelirteçler olarak sıralanabilmektedir (Califf, 2018).

Tanısal olarak geliştirilen bir biyobelirteç, ilgilenilen bir hastalığın varlığını doğrulamak veya tespit etmek için kullanılmaktadır. Ek olarak bireyin ilgili hastalığın hangi alt türüne sahip olduğunu da tanımlayabilmektedir. Bir tanı biyobelirteci, bilimsel kavramları ilerletmek gibi genel bir uygulamanın ötesine geçerek ileriye dönük araştırmalarda veya klinik uygulamalarda spesifik olarak kullanılacaksa, bağlamına dikkat edilmesi gerekmektedir. Bunun sebebi tanı biyobelirtecinin bir dizi klinik koşulda faydalı olabildiği gibi başka bir bağlamda tamamen yanıltıcı olabilmesinden kaynaklanmaktadır. Tıp alanında yaşanan ilerlemeler ile birlikte bu tür biyobelirteçlerin önemli ölçüde gelişeceği öngörülmektedir. Alıcı-işlem karakteristik eğrilerinin kullanımı, tanısal biyobelirteç değerlendirmelerinde rasyonel sürecin ilerlemesini sağlamaktadır. Ayrıca eşik değerleri ve sağlanan klinik fayda, klinik uygulama için biyobelirteçlerin değerini saptamada önemli ölçütler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak hastalığın varlığını veya yokluğunu tanımlamak için bir standardın olmaması sorun teşkil etmektedir (Califf, 2018).

Öte yandan tek bir biyobelirteç, farklı kullanımlar için birden fazla kriteri karşılayabilmekte ancak bu noktada her bir tanıma karşılık bir kanıt geliştirmek önem arz etmektedir. Bir biyobelirtecine vekil olarak nitelendirilebilmesi için yalnızca sonuçla

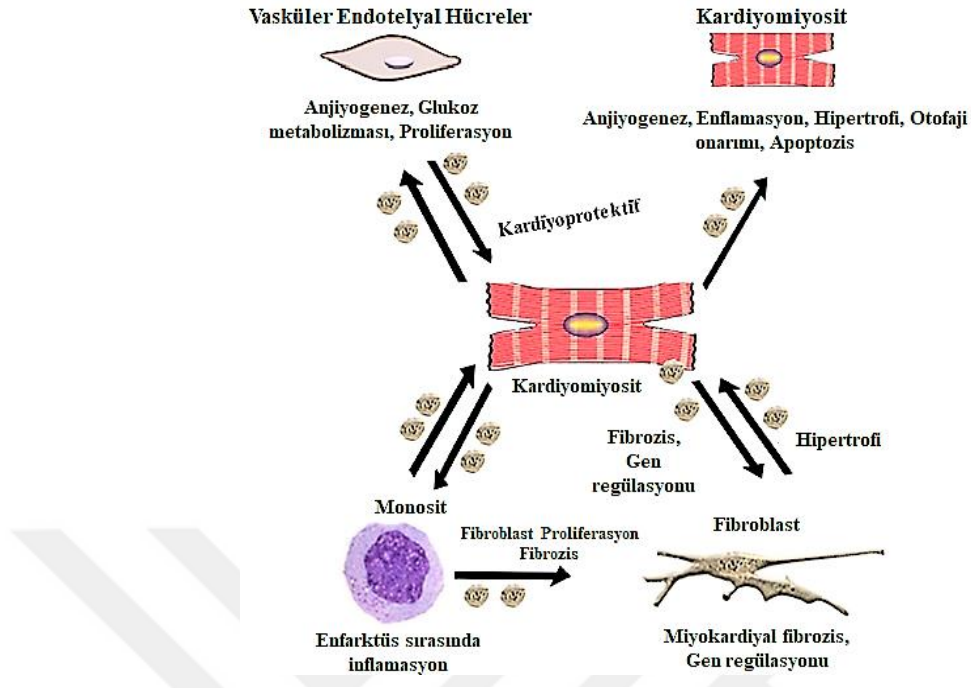
korele olması yeterli olmamakta aynı zamanda biyobelirteç seviyesindeki değişiminin klinik sonuca yansıyan değişimi de anlamlı bir biçimde açıklaması gerekmektedir. Birden çok biyobelirteç ölçümünün bir arada değerlendirilmesi, tahmin anlamında daha iyi sonuç saptamayı sağlayabilmektedir. Tek bir biyobelirteci anlamak için gereken çaba, birden fazla biyobelirtecin birbiriyle ilişkisi düşünüldüğünde kat kat daha karmaşık olmaktadır (Califf, 2018).

2.8. Eksozomal mikroRNA'ların Kardiyovasküler Hastalıklar ile İlişkisi ve Biyobelirteç Potansiyeli

KVH alanında yapılan çalışmalardan elde edilen veriler sayesinde eksozomların kardiyak patofizyoloji sırasında önemli roller oynadığı bilinmektedir. KV sistem, kalp homeostazını ve fonksiyonunu sürdürmek için hücre-hücre etkileşimi veya parakrin etkileşimi yoluyla iletişim kuran çok sayıda hücre tipinden oluşmaktadır. Yetişkin memeli kalbinde, heterojen bir hücre popülasyonunun mevcut olduğu bilinmektedir. Kardiyomiyositlerin, kalp hacminin %70 ila %80'inini oluşturmasına karşın bu oran toplam hücre sayısı göz önüne alındığında yalnızca %25 ila %35'e karşılık gelmektedir. Geri kalan hücreler; fibroblastlar, endotel hücreler, perisitler (perivasküler hücreler) ve telositler olmak üzere miyosit olmayan hücreler olarak sıralanabilmektedir. Kalpte en bol bulunan miyosit olmayan hücre grubu fibroblastlardır. Fibroblastlar, homeostazi korumanın yanı sıra hücre dışı matrisin devrinden sorumlu olmaktadır. Aynı zamanda kalp yapısını desteklemektedir. Endotel hücreleri ve perisitler, kan damarlarının en iç tabakasını oluşturmakta ve dolaşımdaki kan ile çevre dokular arasında meydana gelen moleküler değişimlere izin vermektedir. KV sistemde yer alan hücrelerin çoğu eksozom salgılamaktadır. Salgılanan bu eksozomların içeriği, farklı koşullara yanıt olarak kalp fonksiyonunun iyileşmesini veya bozulmasını teşvik edecek şekilde değişmektedir. Endotel hücreleri, vasküler bütünlüğün kurulmasını ve korunmasını düzenlemek için eksozomlar aracılığı ile etkileşime girebilmektedir. Ayrıca kardiyak telositlerden köken alan eksozomların anjiyogenez için faydalı olduğu bildirilmiştir. Kalbin hipertrofik büyümesi; kalp kapak hastalıkları, HT, iskemik hastalıklar ve KY dahil olmak üzere birçok KVH türüne eşlik eden uyarlanabilir bir yanıt olarak tanımlanmaktadır. Bu durum kısmen kalpteki diğer kardiyak hücre tipleri arasındaki eksozom aracılı çapraz iletişimden kaynaklanmaktadır (Nguyen vd., 2021).

Kardiyak eksozomlar, hücreden hücreye iletişime aracılık etmek ile birlikte hedef hücrelerin aktivitelerini uyarmakta veya inhibe etmektedir. Hedef hücrelerin seçimi, hem eksozomların hem de hedef hücrelerin üzerinde yer alan tetraspaninler, integrinler, proteoglikanlar ve lektinler gibi yüzey reseptörleri ve yapışma molekülleri tarafından sağlanmaktadır. Bu sayede; miyokardiyal hipertrofi, infarktüs, ventriküler yeniden şekillenme, anjiyogenez ve AS'yi etkilemektedir. Kardiyomiyositlerden, vasküler hücrelerden, fibroblastlardan ve yerleşik kök hücrelerden olmak üzere kalpten salınan eksozomlar hipoimmünojenik olmaktadır. Bu eksozomlar, fizyolojik olarak kalp hücrelerinden daha stabil olup vücutta dolaşabilmekte ve kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Glikoz yoksunluğu, hipoksi, iltihaplanma, hasar veya artan Ang II üretimi gibi çeşitli stres durumları altında, kardiyomiyositler eksozomlarındaki yükü seçici olarak değiştirebilmekte ve eksozom salınımını artırabilmektedir. Kardiyomiyosit eksozomlarının moleküler belirteçleri; CD9 (Cluster of Differentiation / Farklılaşma Kümesi 9), CD63, CD81 ve HSP 70 olarak tanımlanmıştır. Öte yandan ESCRT'den bağımsız yol ile meydana gelen eksozomların CD9 veya CD63 gibi ESCRT kompleksi ile ilişkili biyobelirteçlerden yoksun olduğu bilinmektedir (Henning, 2021).

Kardiyak eksozomlar, fizyolojik ve patolojik süreçler sırasında; proteinleri, mRNA'ları ve miRNA'ları diğer hücrelere iletmektedir. Ang II ile aktive edildiği takdirde kalp hacminin üçte birini ve tüm kalp hücrelerinin yaklaşık % 60 ila %70'ini oluşturan kardiyak fibroblastlar, mikroRNA-21 (miR-21) gibi miRNA'ları içeren eksozomları kardiyomiyositlere salgılamakta ve bu durum anjiyotensin reseptörlerini aktive ederek kardiyomiyosit hipertrofisini indüklemektedir (Şekil 2.12). Diğer taraftan GW4869 ve dimetil amilorid tarafından salınan fibroblast eksozomlarının baskılanması, miR-21 kaynaklı kardiyomiyosit hipertrofisini inhibe etmektedir. Spesifik kardiyak eksozomal miRNA'lar; sarkomerik genlerin, iyon kanalı genlerinin, otofajinin, anjiyogenezin, anti-apoptotik ve anti-fibrotik aktivitenin ekspresyonunu düzenlemektedir (Henning, 2021).



Şekil 2. 12. Kardiyomiyosit eksozomları (Henning, 2021).

Eksozomların miRNA'ları içerdiği keşfedildikten sonra, endotel hücrelerindeki büyüme faktörlerinin ve diğer proteinlerin ekspresyonunu parakrin sinyalleme yoluyla düzenlemek üzere endotel kapiller hücrelerinin büyüme süreci olan anjiyogenezin fizyolojik ve patolojik süreçlerine katıldığı; yapılan çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır. Bu bilgilere paralel olarak hastalıkların tanı ve tedavisinde, eksozomdan köken alan miRNA'ların, biyobelirteç ve ilaç taşıyıcısı olarak önemli roller oynayabileceği düşüncesi doğmuştur. Anjiyogenezde yer alan eksozomlar için az sayıda çalışma olmasına rağmen literatürde kalp hakkında birçok rapor bulunmaktadır. Anjiyogenez sürecini teşvik eden eksozomların, spesifik downstream moleküler mekanizması tam olarak anlaşılmamış olup hangi fonksiyonel protein veya nükleik asit bileşenlerinin sürece dahil olduğu da belirsizliğini korumaktadır. Yapılan çalışmalar, hasarlı kalbin onarım sürecini başlatmak amacıyla eksozomların diğer doku ve organlarla iletişim kurduğu temel bir mekanizma sağlayabildiğini ve kök hücrelerin kalp kasını onarıp yenilediğini göstermektedir. Ayrıca eksozomdan köken alan miRNA'ların düzenlenmesi ile kalp hasarının tedavisi anjiyogenez çalışmaları için referans sağlamaktadır (Zhang & Huang, 2021). Bunların

yanı sıra yapılan birkaç çalışma ile eksozomların, anjiyogenezin desteklenmesi yoluyla kardiyak fonksiyon için faydalı olduğu gösterilmiştir (Nguyen vd., 2021).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, eksozomdan köken alan birçok miRNA'nın vasküler hasar ve hastalık sırasında belirgin ekspresyon değişiklikleri gösterdiğini ve ekspresyon özelliklerinin; iskemi, tümör anjiyogenezi, AS, proliferatif vasküler kalınlaşma ve obstrüksiyon ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Zhang & Huang, 2021). Bu bağlamda yapılan çalışmalar KY'de bazı eksozomal miRNA'ların özgülüğünü göstermiş olup bu eksozomal miRNA'ları tanısal biyobelirteçler olarak önermiştir (Zamani vd., 2015). Ayrıca belirli bir miRNA seti, miyokard infarktüsü (MI) için güvenilir ve tekrarlanabilir biyobelirteçler olarak tanımlanmıştır (Das & Halushka, 2015; Haider vd., 2014; Kondkar & Abu-Amero, 2015).

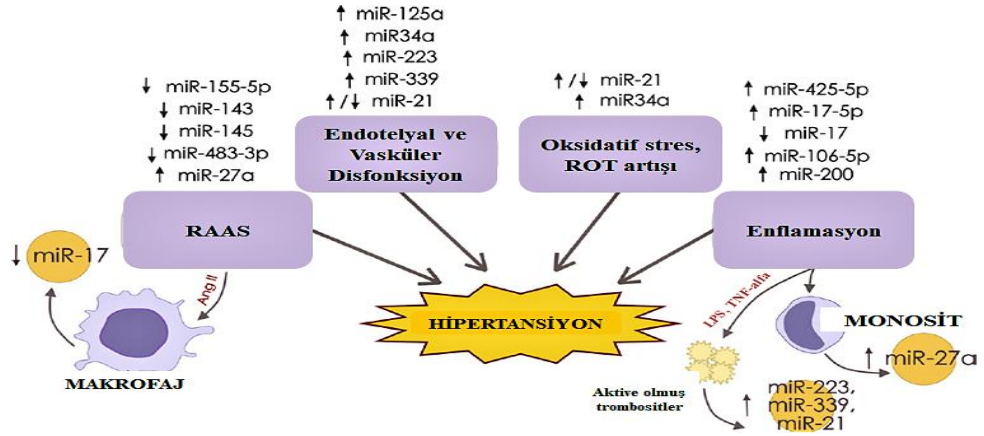
PAH'ye sahip bireylerden alınan eksozomların, endotel hücrelerinde ve VDKH'de olumsuz vasküler yeniden şekillenmeyi artıran miRNA'ları içerdiği saptanmıştır. Ayrıca bu durumun AS'nin şiddeti ile korele olduğu bildirilmiştir (Tan vd., 2021).

Eksozom biyogenezinin ve fonksiyonunun net bir şekilde anlaşılması, KVH için yeni tanı ve tedavi stratejilerine yol açma potansiyeline sahiptir. Dolaşımdaki eksozomlardan köken alan miRNA'ların, kalp hastalığının varlığı ve hasta prognozu açısından önemli biyobelirteçler olarak hizmet edebileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda eksozomal miRNA'lar, OS'yi ve fibrozu azaltarak ve hasarlı miyokardda kan damarlarının oluşumunu artırarak; MI sonrası kardiyomiyosit, vasküler endotelial hücre sağ kalımı ve işlevi bakımından önemli düzenleyiciler olarak tanımlanabilmektedir. Dolaşımdaki spesifik kardiyak eksozomal miRNA'lar, akut MI'nın erken tanısı için biyobelirteç; iskemik kardiyomiyopati ve konjestif KY'nin gelişimi için prognostik belirteç olma açısından büyük potansiyele sahiptir. Bunun yanı sıra KV koruma ve neovaskülarizasyonda eksozom tutulumu, eksozomların iskemik ve aterosklerotik KVH'nin tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak eksozomların; biyouyumlulukları, dolaşımdaki stabiliteleri, biyolojik bariyer geçirgenlikleri, hipoiimmünojeniteleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle terapötik farmakolojik ajanların verilmesi amacıyla kullanılmasının yüksek potansiyel taşıdığı düşünülmektedir (Henning, 2021).

2.9. Eksozomal miRNA'ların Esansiyel Hipertansiyon ile İlişkisi ve Biyobelirteç Potansiyeli

Dolaşımda yer alan ve idrarda mevcut olan EV'ler, HT'de potansiyel aday biyobelirteçler olarak görülmekte idi. Zaman içerisinde EV'lerin rolü yalnızca HT fenotiplerinin bir biyobelirteci olmaktan çıkmış ve HT mekanizmalarında ilgili biyoaktivatörler olmaya doğru genişlemiştir. EV'ler özellikle klinik olarak ilgili HT'nin tanısını optimize etmek, HOH'yi erken teşhis etmek ve HT'nin hastalık mekanizmalarını tanımlayabilmek için yeni araçlar olarak hizmet edebilecektir. Bu sayede optimize edilmiş HT tedavisinin önü açılabilir. EV'ler genellikle invaziv olmayan veya minimal invaziv olarak erişilebilir olmaktadır. Ayrıca sıvı biyopsi yöntemi anlamında da işlevsel olabileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, spesifik olarak hangi EV alt tiplerinin HT patofizyolojisini en iyi şekilde yansıttığı henüz net bir şekilde ayırt edilememektedir. Yapılan çalışmalar, EV'lerin vasküler ve renal tübüler fonksiyonda düzenleyiciler olarak görev alabileceğini ve aynı zamanda terapötik rollere sahip olabileceğini desteklemektedir. Ancak bu öngörülerini netleştirebilmek ve EH'de yeni biyobelirteçleri tanımlayabilmek adına; daha fazla EV araştırmalarına ve bu araştırmalar için daha uygun yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır (La Salvia vd., 2020a).

EV'lerin içeriğinde yer alan proteinler, AH'de potansiyel bir biyobelirteç olarak araştırılmıştır. EH'li hastalarda, sağlıklı kontrollere kıyasla endotel kökenli proteinleri taşıyan ve dolaşımda yer alan EV düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda EV düzeyleri; HT'nin şiddeti, vasküler disfonksiyon ve hasar ile ilişkilendirilmektedir (Şekil 2.13) (La Salvia vd., 2020a). Ek olarak yapılan klinik çalışmalar kapsamında dolaşımda mevcut olan inflamatuvar belirteç düzeyleri; HT, vasküler inflamasyon ve endotel disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (Tan vd., 2021).



Şekil 2. 13. Eksozomal mikroRNA'ların hipertansiyon patogenezindeki rolü (Tan vd., 2021).

Eksozomal miRNA'ların EH'yi spesifik olarak nasıl etkilediğine dair bilinenler büyük ölçüde hayvan modelleri ve kültürlenmiş hücre hatlarıyla sınırlı olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda kökenleri farklı olan eksozomal miRNA'ların, RAAS bileşenlerinin ve toplam periferik direnci artıran durumların yanında endotelial ve VDKH'nin işlevsel ve yapısal özelliklerinde meydana gelen değişiklikleri modüle ederek HT gelişimini etkileyebileceği gösterilmiştir. Eksozomal miRNA'ların diferansiyel olarak en iyi şekilde eksprese edilen formunun dolaşımdaki miRNA havuzunda tespit edilmesi, klinik anlamda eksozomal miRNA'lar ve HT arasında potansiyel bir korelasyon olduğunu düşündürmektedir (Tan vd., 2021).

Literatürde yer alan mevcut kanıtlar, eksozomal miRNA'ların sırasıyla ACE / Ang II yolu ve ACE2 (Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2) / Mas yolu gibi RAAS'nin hem zararlı hem de faydalı yollarını düzenleyebileceğini göstermektedir. RAAS bileşenlerinin düzenlenmesi yalnızca vasküler ve endotel yapı ile fonksiyonu etkilemekle kalmayıp aynı zamanda enflamasyonu güçlendirebilmekte veya hafifletebilmektedir. İn vitro ve in vivo gerçekleştirilen çalışmalar, miR-155-5p aşırı ekspresyonunun ACE geninin ve akabinde Ang II peptidinin seviyelerini doğrudan azaltarak; KB'yi, vasküler yeniden şekillenmeyi ve vasküler proliferasyonu azalttığını göstermektedir (Tan vd., 2021).

Klinik verilerden elde edilen bilgiler doğrultusunda, dolaşımda yer alan eksozomal veya diferansiyel olarak eksprese edilen miRNA'ların, HT patofizyolojisi ile ilişkilendirilen çeşitli süreçlerde etkin olduğu görülmektedir (Tan vd., 2021). ROT'un aşırı üretimi OS'ye neden olmakta ve bu durum HT gelişiminde inflamasyon ve patolojik

yeniden şekillenme ile yakından ilişkilendirilmektedir (Guzik & Touyz, 2017). Bu bağlamda eksozomal miRNA'ların sırasıyla; süperoksit dismutaz (SOD) ve Nox enzimleri de dahil olmak üzere pro- ve antioksidan bileşenler arasındaki dengeyi etkilemedeki rolünün anlaşılması ile hastalığın altında yatan mekanizmaların ortaya çıkması söz konusu olabilecektir (Tan vd., 2021).

Mevcut çalışmalar ile miRNA'ların; anjiyogenez, inflamasyon, yaşlanma ve proliferasyonda rol oynayan genleri hedef aldığı gösterilmiştir (La Salvia vd., 2020a). miRNA'ları konu alan çalışmalarda önemli ilerlemeler kaydedilse de halen çözülememiş bazı sorunlar mevcuttur. Bu sorunlardan ilki, yanlış pozitif ve yanlış negatif miRNA hedeflerinin öngörülmesi olarak ifade edilebilmektedir. Bir diğer sorun hücre tipi özgüllüğü nedeniyle aynı miRNA'nın farklı hücre tiplerinde farklı etkiler gösterebileceği gibi ve tam tersi bir etki yaratabilmesi olarak belirtilebilmektedir. Bunun yanı sıra aynı miRNA'lar hastalığın farklı dönemlerinde farklı roller oynayabilmektedir (Wang vd., 2019).

Literatürde EV-ilişkili RNA ve HT'ye odaklanan az sayıda çalışma mevcuttur. EV-ilişkili RNA'yı temel alan HT biyobelirteç çalışmaları; stabilite, RNA-dizilemede yüksek okuma oranı ve KVH'de potansiyel fonksiyonel ve düzenleyici etkileri hakkındaki varsayımlar nedeniyle miRNA imzalarına odaklanmıştır (La Salvia vd., 2020a). Biyobelirteç potansiyeli açısından değerlendirilen miRNA sayısının en az üç çeşit olması, miRNA imzası olarak adlandırılmaktadır (Backes vd., 2016). Tanısal biyobelirteçlerin doğruluğunu değerlendirmek amacı ile Alıcı Çalışma Karakteristiği (Receiver operating characteristic / ROC) eğrileri kullanılmış ve birkaç belirteç adayını kapsayan kombinasyonun belirlenen tek bir belirteç adayına kıyasla daha doğru sonuç verebileceği saptanmıştır (Tan vd., 2021). Elde edilen bu sonuç, miRNA imzasının hastalık fenotiplerinin mevcut karmaşıklığını yeterince yansıtabilmesi ile açıklanabilmektedir (Backes vd., 2016). Diğer taraftan mevcut çalışma sayısının az olması nedeniyle biyobelirteç potansiyeline sahip eksozomal miRNA'ların kliniğe uyarlanması için yeteri kadar veri bulunmamaktadır. İdeal biyobelirteç; doğru, duyarlı ve spesifik olmalıdır (Sanz-Rubio vd., 2018). Ancak şimdiye kadar dolaşımdaki miRNA'lar için EH'de tutarlı ve kesin bir biyobelirteç tanımlanmamıştır. Bunun en önemli sebebi, dolaşımdaki miRNA profillerinin her çalışmada varyasyon göstermesi olarak söylenebilmektedir. Bu durum; küçük örneklem grupları, hastaların demografik

özelliklerindeki farklılıklar ve kombine miRNA profil analizi gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Tan vd., 2021). Eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerini değerlendirmenin ilk adımı, sağlıklı deneklerde stabilitelerini göstermektir. Sağlıklı bireyler arası değişkenliğin belirlenmesi, dolaşımda yer alan eksozomlar ile yapılacak ileri çalışmalarda örnek boyutunun optimize edilmesine yardımcı olacaktır (Sanz-Rubio vd., 2018).

Eksozomlar, kalp debisini ve hücreler arasındaki periferik direnci artıran süreçleri düzenlenmesi için gereken anahtar niteliğindeki miRNA'ları taşıyan muhtemel araçlar olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle eksozomal miRNA'ların, serbest dolaşımdaki miRNA'lara kıyasla HT için daha uygun biyobelirteç adayları olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan potansiyel tanı belirteçlerini belirlemek, yeni tedaviler geliştirmek ve eksozomal miRNA'ların KVH'deki fizyolojik önemini tam olarak anlayabilmek için; çeşitli hücre tiplerinde eksozomal miRNA'ların alım mekanizmaları ve klinik ortamda KV etkileri üzerine daha fazla araştırma çalışmasına ihtiyaç vardır (Tan vd., 2021).

2.9.1. Eksozomal miR-21-5p Biyobelirteç Potansiyeli

miR-21, keşfedilen en eski insan miRNA'larından biridir (Lv vd., 2018). EH'de miR-21, vasküler yeniden şekillenmenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Altıntaş vd., 2022). RNA-dizileme ve polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction / PCR) yöntemleri ile yapılan çalışmalar sonucunda, miR-21-5p endotel progenitör hücre eksozomlarında en bol miktarda bulunan miRNA olduğu doğrulanmıştır. Bu sonuçlar, miR-21'in eksozomlarda paketlenildiği anlamına gelmek ile birlikte miR-21'in tümörler ve KV dolaşım için biyobelirteç potansiyeli taşıdığını göstermektedir (Zhang & Huang, 2021).

Eksozomal miR-21, kardiyak hipertrofiyi indüklemekte ve pro-hipertrofi bilgilerini kardiyak fibroblastlardan kardiyomiyositlere aktaran anahtar bir aracı olarak görev yapmaktadır. Eksozomal miR-21 yoluyla kardiyak progenitörlerden salınan eksozomlar, PDCD4'ü (Programmed Cell Death 4 / Programlanmış Hücre Ölümü 4) hedefleyerek kardiyomiyositleri OS kaynaklı apoptoza karşı koruyabilmektedir. Bu alanda yapılan bir çalışma sonucunda en yüksek temsilde bulunan mikroRNA-21a-5p'nin (miR-21a-5p) hem kültürde hem de in vivo eksozom uygulamasında kardiyomiyositlere

aktarıldığı ve kalp koruyucu etkinin büyük bir kısmından sorumlu olduğu bildirilmiştir (Luther vd., 2018).

VDKH'nin fenotipik plastisitesi, EH ile meydana gelen arteriyel yeniden şekillenmenin patofizyolojisinde kritik bir role sahip olmaktadır. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada EH hastalarından oluşan hasta grubu ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında VDKH fenotipik modülasyonunda rol oynayan bazı miRNA'ların ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda hipertansif hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek miR-21 seviyeleri gözlenmiş olup miR-21'in 24 saatlik ortalama nabız basıncı ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Hipertansif hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) azalmış miR-21 düzeylerinin, artmış DKB ve ortalama KB ile ilişkili olduğunu gösteren bu sonuçlar, insanda görülen HT'de miR-21'in olası etkilerini ortaya koymuş ve klinik belirteç potansiyeli açısından hipertansif hastalar ile ilişkilendirilmiştir (Marques vd., 2015).

Çalışmalar, miR-21'in KV sistem için bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Zhang & Huang, 2021). Ek olarak literatürde yer alan birçok çalışma, serum veya plazma miR'lerinin yalnızca KVH için invaziv olmayan biyobelirteçler olarak değil aynı zamanda HT bağlamında HOH için de hizmet edebileceğini ileri sürmektedir (Huang vd., 2017). Ancak bu çalışmalar çoğunlukla dolaşımdaki serbest miR-21 üzerine odaklanmıştır.

2.9.2. Eksozomal miR-155-5p Biyobelirteç Potansiyeli

mikroRNA-155'in (miR-155) kalp damar hastalıkları ile bağlantılı olan; bağışıklık, inflamasyon, viral enfeksiyonlar ve vasküler yeniden şekillenmede önemli roller oynadığına dair kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır. miR-155'in farklı hücre tiplerinde farklı hedef genler yoluyla etkili olması çeşitli hastalık mekanizmalarına neden olmaktadır (Cao vd., 2016). Örneğin; SNP olan rs5186, AT1R mRNA'sında konumlanan miR-155-5p'nin bağlanma bölgesini bozmakta ve bu durum artan HT riski ile ilişkilendirilmektedir (Peters vd., 2020).

HT'si olan hastalar ve sağlıklı kontrollerde miR-155'in ofis ve ayaktan KB parametreleri ile SVH arasındaki ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışma sonucunda dolaşımdaki miR-155'in EH hastalarında invaziv olmayan potansiyel biyobelirteç

özelliğine sahip olduğu ve HOH'nin bir göstergesi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Huang vd., 2016). Ayrıca miR-155'in, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimini düzenleyerek HT gelişimini önlemede yararlı olabileceği de düşünülmektedir (Altıntaş vd., 2022; Yavuzer vd., 2017).

AS; endotel hücrelerin, makrofajların ve düz kas hücrelerinin işlev bozukluğunu içeren karmaşık bir süreçtir ve HT'de HOH'nin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Huang vd., 2017). Trombosit eksozomlarında mevcut olan miRNA'ların bir kısmı, inflammatuar bir yanıtı indükleyebilirken bir kısım miRNA ise inflammatuar bir reaksiyonun oluşumunu engelleyebilmektedir. Eksozomal miRNA'lar, AS sürecine birçok yönden katılmakta ve böylece hastaların kanındaki ilgili hücre dışı moleküllerde miRNA tespit edilebilmektedir. Bu durum, AS'nin erken teşhisi için alternatif bir yol olarak görülmektedir (Wang vd., 2019). Bu bilgilere paralel olarak miR-155, AS ve KAH'de yoğun olarak çalışılmıştır. Daha önce Krüppel benzeri faktör 5 (KLF5)'in, miR-155 başta olmak üzere çoklu miRNA'ların ekspresyonunu düzenleyerek AS'yi teşvik etmede bir rolü olduğu gösterilmiştir (Zheng vd., 2017). Buradan yola çıkarak mevcut geleneksel tedaviler ile kombine edilerek KLF5 veya miR-155'i hedeflemek, AS için yeni bir terapötik strateji olarak düşünülebilmektedir (Wang vd., 2019). AS'nin patofizyolojik sürecini teşvik eden veya önleyen miR-155'in literatürde yer alan çelişkili sonuçları, bu pleiotropik molekülün karmaşıklığını göstermektedir. Bu nedenle, KVH'lerde miR-155 tutulumunun altında yatan mekanizmalar hakkında daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Cao vd., 2016).

Günümüze dek yapılan çalışmalar incelendiğinde, miR-155'in doğrudan kalp üzerinde büyük bir etkisinin olduğunu söylemek mümkündür. Eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerinin dolaşımdaki serbest miRNA'lara kıyasla daha yüksek olduğu düşüncesine karşın yapılan çalışmalar çoğunlukla dolaşımdaki serbest miR-155'i kapsamaktadır.

2.9.3. Eksozomal miR-1296-5p Biyobelirteç Potansiyeli

miR-1296-5p, AS'de önemli roller oynadığı bilinen endotel hücreleri arasındaki hücre adezyon molekülleri (CAM) ile ilişkilendirilmektedir. İskemik inmenin en sık görülen alt tipi olan büyük arter ateroskleroza (BAA) inme, CAM'leri içeren kronik inflammatuar bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Bu bağlamda BAA inme ile ilişkili

ekzozomal miRNA'ları tanımlamak amacıyla yapılan bir çalışmada ekzozomal miR-1296-5p ekspresyon seviyelerinin; Ulusal Sağlık Enstitüleri İnme Ölçeği (National Institutes of Health Stroke Scale Score / NIHSS) skoru ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmış olup ilgili hastalık için biyobelirteç potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir. Bunun yanı sıra ekzozomlardaki miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin bir dereceye kadar hastalığın şiddetini yansıttığı ve ekzozomlardaki miRNA'ların tanısal etkinliğinin plazmadaki miRNA'ların tanısal etkinliğinden daha iyi olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi diğer birçok sayıdaki çalışmada da kombine biyobelirteçlerin tanısal etkinliğinin tek bir biyobelirteçten daha güvenilir olduğu gösterilmiştir (Niu vd., 2021).

KV sistemde ekzozomal miR-1296-5p ile yapılan çalışmaların literatürde oldukça sınırlı sayıda olduğu söylenebilmektedir. Ancak ekzozomal miR-1296-5p'nin AS ile ilişkilendirilmesine dayanarak EH ile de ilişkilendirilebileceği öngörülmektedir.

2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR yöntemi, belli bir matrise ve bu matrise bağlanan primerlere dayanarak genetik materyalin logaritmik amplifikasyonunu içermektedir. Bu yöntem, belli sıcaklıklarda döngüsel olarak tekrarlanan üç adımlı reaksiyon şeklinde gerçekleşmektedir. Bu adımlar; matris denatürasyonu, primer hibridizasyonu ve uzama olarak sıralanmaktadır. Teorik olarak kullanılan materyal, %100 verimlilik varsayımı ile her döngüde iki defa çoğaltılmaktadır (Kozera & Rapacz, 2013).

2.11. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Klasik PCR'nin bir modifikasyonu olan RT-qPCR, başta gen ekspresyonu olmak üzere günümüz tanı testlerinde en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir (Kozera & Rapacz, 2013). Bu teknolojinin temeli, klasik çok adımlı PCR yoluyla çoğaltılan hedefin floresan ile tespitine dayanmaktadır. RT-qPCR yöntemi ile gerçekleştirilen gen ekspresyon analizi, ters transkriptaz (reverse transcriptase / RT) enzimi ile komplementer DNA (complementary DNA / cDNA) sentezi ve DNA polimeraz enzimi ile şablonun katlanarak çoğaltılması adımlarını içermektedir. İlk olarak uygun şekilde gerçekleştirilen ters transkripsiyon ile RNA, cDNA'ya dönüştürülmektedir. DNA polimerazlar ise hedefin

katlanarak çoğaltılması için kullanılan bileşenler olarak tanımlanmaktadır (Gadkar & Fillion, 2014).

Gerçek zamanlı görüntüleme, çift sarmallı DNA'ya bağlanan ve floresan yoğunluğunda yaklaşık 1000 kat artışla gözlenebilen SYBR Green I gibi özel floresan boyaların kullanılmasıyla mümkün olmaktadır (Kozera & Rapacz, 2013). Halen bu temele dayanarak çalışan RT-qPCR teknolojisi; enzimatik reaksiyon karışımı bileşenlerinde (polimerize edici enzimler, reaksiyon tamponları, probalar, vb.) ve sistemsel (enstrümantasyon, yazılım, vb.) bileşenlerde yapılan çeşitli değişiklikler sayesinde geliştirilmeye devam etmektedir (Gadkar & Fillion, 2014). Bu yöntemin avantajları; reaksiyonun gerçek zamanlı takibi, hassasiyet, hızlı analiz imkanı ve numunede mevcut olan materyalin hassas ölçümü olarak sıralanabilmektedir (Kozera & Rapacz, 2013).

2.11.1. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yönteminde Kısıtlamalar

Avantajlarının yanı sıra RT-qPCR yöntemi için meydana gelebilecek belli başlı sorunlar da tanımlanmıştır. En sık meydana gelen sorunlar; örneklerin muhafazası ve kalitesi ile birlikte RNA ekstraksiyon prosedürü, uygun olmayan primerlerin seçimini içeren cDNA sentezi ile ters transkripsiyon süreci ve uygun olmayan istatistiksel analizin gerçekleştirilmesinden kaynaklanmaktadır. Diğer bir sorun hücrenin, iç ve dış faktörlerin etkisi altında dinamik ve değişken bir canlı formunda olduğu göz önüne alındığında; çeşitli örneklerde mevcut her bir mRNA'nın hem mutlak hem de göreceli miktarında yüksek değişkenlik göstermesinden kaynaklanmaktadır. Öte yandan pipetaj hatası veya materyal aktarımındaki hatalar bu değişkenliğin nedenlerinden olabilmekte ve nükleik asitlerin kararsızlığından dolayı RNA'nın ekstraksiyon ve saflaştırma süreci değişken verimlilik ile ilerleyebilmektedir. Bunlara ek olarak, kullanılan biyolojik materyal düşük spesifitede nükleik asit içerebilmektedir. RNA'nın, absorbans oranlarıyla saflığı ve SPUD testleriyle bütünlüğü kontrol edilebilmekte ancak bunun için altın bir standart söz konusu olmamaktadır (Kozera & Rapacz, 2013).

PCR tabanlı analiz platformları için kritik bir faktör; primerin veya probun heterojen karışım içerisinde mevcut olan hedefi ayırt etmesi ve bu hedefi yüksek özgüllük ile bağlama konusundaki hassasiyeti olarak belirtilmektedir. RT-qPCR'de primerlerin veya probaların tasarımı, katı kurallar çerçevesinde gerçekleştirilmekte ve bu kurallar söz

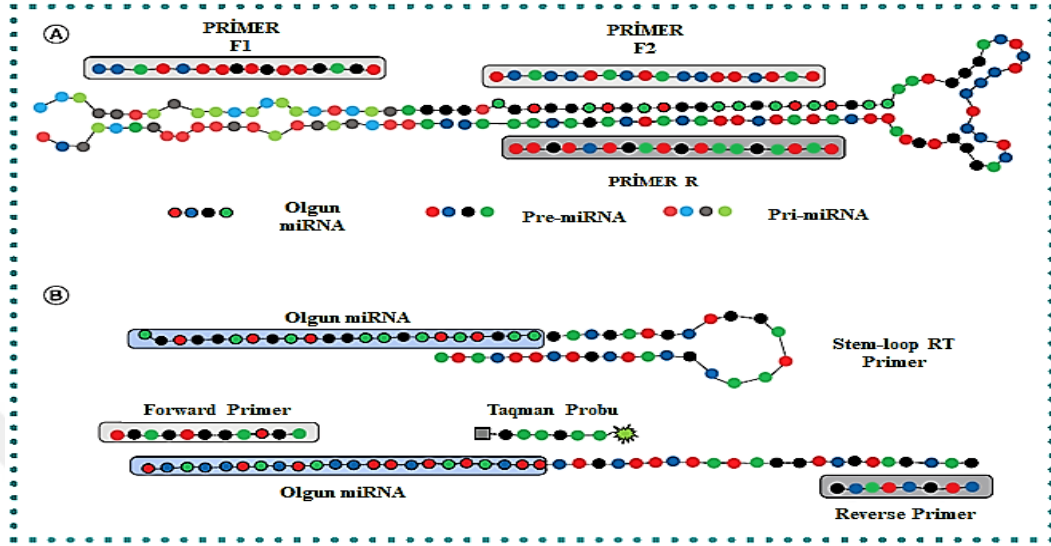
konusu analiz için kullanılan floresan kimyasalına dayanmaktadır. Ancak bu alanda da bazı sınırlamalar söz konusu olabilmektedir. En yaygın görülen sınırlamalardan biri, primerlerin veya probun yanlış bağlanması nedeniyle sahte floresan sinyallerin üretilmesidir. Bu tür sınırlamaların üstesinden gelmek amacı ile hedefi eksponansiyel olarak çoğaltan ve kullanıcının tanımladığı sabit bir sıcaklıkta çalışan tespit platformları kullanılmaktadır. Bir primerin veya probun özgüllük ve tanıma kapasitesini artırarak analizin hassasiyetini artırmak; geçmişten günümüze hedeflenen bir konu olmaya devam etmektedir. Bu hedefe ulaşmak için uygulanan en geleneksel yaklaşım, amplifikasyon reaksiyonunun çeşitli bileşenlerini manipüle etmek olmuştur. Bu manipülasyonlar; yüksek oranda optimize edilmiş reaksiyon tamponunun kullanılması, iki değerlikli iyonların seviyelerinin artırılması ve primerin yanlış hedeflenmesini önlediği bilinen spesifik katkı maddelerinin kullanılması olarak sıralanabilmektedir (Gadkar & Fillion, 2014).

2.11.2. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve mikroRNA'lar

RT-qPCR; miRNA'ya özgü forward primer, evrensel bir reverse primer ve SYBR Green ile gerçekleştirilmektedir (Forero, González-Giraldo, Castro-Vega & Barreto, 2019). Olgun miRNA'ların kısa dizilerden oluşması ve miRNA ailelerinin yüksek benzerliği nedeni ile bu ncRNA'ların RT-qPCR ile ekspresyon analizinde bazı zorluklar söz konusu olmaktadır. Mevcut yaklaşımlar, miRNA'ya özgü primerleri veya evrensel RT-qPCR primerlerini kullanmakta olup birçok teknik, SYBR Green boyasının kullanımına dayanmaktadır. Tekniklerin çoğu, olgun miRNA'ların analizleri için oluşturulmuştur (Forero vd., 2019).

İlk kez 2004 yılında Schmittgen ve arkadaşları, miRNA'ların analizi için RT-qPCR tabanlı bir yöntem bildirmişlerdir (Schmittgen, Jiang, Liu & Yang, 2004). Bir primer seti pre-miRNA'ya özgü bir bölgeyi amplifiye ederken diğer primer seti hem pre-miRNA hem de pre-miRNA moleküllerinde bulunan bir bölgeyi amplifiye etmekte ve SYBR green sayesinde oluşan floresan miktarı ölçülerek analiz gerçekleştirilmiştir. 2005 yılında Chen ve arkadaşları (Chen vd., 2005), olgun miRNA'ların analizi için ilk kez stem-loop qPCR yaklaşımını tanımlamışlardır. Bu yöntem yaygın olarak kullanılmakta ve olgun miRNA'ya bağlanan bir stem-loop RT primerini içermektedir. Ayrıca miRNA'ya

özgü bir TaqMan probu kullanılmış ve olgun miRNA seviyelerini ölçmek için meydana gelen floresan miktarları ölçülmüştür (Şekil 2.14) (Forero vd., 2019).



Şekil 2. 14. (A) Schmittgen ve arkadaşları (Schmittgen vd., 2004) ve (B) Chen ve arkadaşları (Chen vd., 2005) tarafından geliştirilen qPCR yöntemlerine genel bakış (Forero vd., 2019).

2009 yılında bir grup uluslararası araştırmacı (Bustin vd., 2009), yazarlar ve hakemler için yararlı olan Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR Deneylerinin Yayınlanması için Minimum Bilgi Kılavuzu'nu (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments / MIQE) yayınlamıştır. Deneysel tasarım, örnekler, nükleik asit ekstraksiyonu, RT, qPCR hedef bilgileri, qPCR oligonükleotidleri, qPCR protokolü, qPCR validasyonu ve veri analizi dahil olmak üzere qPCR tabanlı çalışmalar hakkında kapsamlı yönergeler içermektedir (Forero vd., 2019).

Küçük RNA'nın yüksek verimli dizilemesinden elde edilen sonuçlar, farklı doku ve hücrelerde bulunan miRNA izoformlarında (izomiR) büyük bir heterojenlik olduğunu göstermektedir. İzomiR'ler, miRNA'ların uzunluğundaki veya dizilimindeki değişiklikler sonucunda oluşmaktadır. 5' izomiR'ler ve 3' izomiR'ler olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Çoklu izomiR'ler farklı fonksiyonel etkilere sahip olmakta ve çeşitli biyolojik mekanizmaların yanı sıra hastalıklar ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Forero vd., 2019).

2.11.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Normalizasyon

RT-qPCR maksimum analitik potansiyeline ulaşabilmesi için gerekli normalizasyon yöntemlerinin uygulanması ve sonuçların doğrulanması gerekmektedir (Kozera & Rapacz, 2013). Bu amaç ile internal amplifikasyon kontrolü (IAK) kullanılabilmektedir. IAK, tercihen aynı reaksiyon tüpünde yer alan, aynı reaksiyon koşulları altında hedef DNA/RNA ile birlikte çoğaltılan ancak hedef olmayan bir DNA/RNA dizisi olarak tanımlanmaktadır (Gadkar & Fillion, 2014). Bunun yanı sıra harici kontrollerin (spike-in miRNA) kullanımı da normalizasyon için önem arz etmektedir. Spike-in kontroller çoğunlukla RNA ekstraksiyonlarındaki değişkenliği hesaba katmak için kullanılmaktadır (Forero vd., 2019).

Referans genler, hedef diziden farklı dizilere sahip olan IAK olarak tanımlanmaktadır. Bir genin güvenilir bir referans olarak kabul edilebilmesi için birkaç önemli kriteri karşılaması gerekmektedir. Bu kriterlerden en önemlisi, deneysel faktörlerden etkilenmeyen ekspresyon düzeyidir. Gerekli kriterleri sağlayan bu temel metabolizma genleri Housekeeping genler (HKG) olarak adlandırılmaktadır. İzole edilen total RNA'da asıl hedef mRNA iken ters transkripsiyona maruz kalan rRNA miktarları da mevcut olmaktadır. Total RNA'nın normalizasyonunda karşılaşılan sorunlardan biri, rRNA:mRNA oranlarında görülen yaygın farklılıklardır. Araştırmacıların çoğu, referans genlerin kullanımının normalizasyon için en etkili ve en kolay yöntemlerden biri olduğu konusunda hemfikirdir. Ancak bu yöntemin kullanımı, ilgili genlerin çeşitliliğinden ileri gelen bir doğrulama ihtiyacını gerektirmektedir (Kozera & Rapacz, 2013).

Reaksiyon, üstel yani bir sonraki aşamaya ne kadar hızlı ulaşır ise örnekte mevcut olan hedef dizinin bir o kadar fazla şablonu olduğu anlaşılmaktadır. Floresansın arka plan seviyesini aşmaya başladığı döngü, döngü eşiği (Cycle threshold / Ct) olarak adlandırılmakta ve bir sonraki logaritmik fazın başlangıcını oluşturmaktadır. Referans genin test edilen gen ile aynı ekspresyon seviyesine sahip olması ideal olarak kabul edilmektedir. Ancak bu durum her zaman mümkün olmamaktadır. Genel kılavuzlara göre seviyenin, çok düşük ($Ct > 30$) veya çok yüksek ($Ct < 15$) olması istenmemektedir. Teoride referans genler, deneysel faktörlerin etkisine rağmen test edilen örneklerin her birinde kalıcı ve değişmeyen bir ekspresyon düzeyi ile karakterize edilmelidir. Ancak çoğu zaman pratikte elde edilen Ct değerlerinde değişkenlikler gözlenmektedir. Böyle bir

durumda en istikrarlı ekspresyon düzeyine sahip olan veya ortalamadan en az sapma gösteren genlerin seçilmesi uygun olacaktır (Kozera & Rapacz, 2013).

Gen transkript miktarlarının analizi, mutlak veya göreceli hesaplamalara dayanmaktadır. Mutlak yöntem, örnekte içindeki şablonun kopya sayısına ve test dizisinin bilinen konsantrasyon çözeltisinin seri dilüsyonları ile hazırlanan standart eğrisine dayanmaktadır. Göreceli yöntem ise eğrinin sadece reaksiyon verimliliğini hesaplamak için kullanıldığı ve sonucun kalibratör ile ilişkili olarak verildiği bir yöntem olarak tanımlanmaktadır. Genellikle transkript sayısı, önceden tanımlanmış referans genlerin miktarıyla ilişkili olarak verilmektedir. Bu tür bir normalleştirme, karşılaştırılan numuneler arasındaki farkları etkili bir şekilde düzeltebilmektedir (Kozera & Rapacz, 2013).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Çizelge 3.1.'de yer alan kriterlere uygun olarak örneklem grubuna dahil olan gönüllülerden (Çizelge 3.1) periferik venöz kan örnekleri alınmış ve bu örnekler RNA-later solüsyon içeren tüplerde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na iletilmiştir.

3.1.2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Çalışmaya dahil edilecek hastalara sözlü ve yazılı olarak gerekli bilgilendirmeler yapılmıştır. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formları katılımcılara imzalatılarak yazılı onay alınmıştır (*Ek 1*).

3.1.3. Etik Kurul ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Onayı

Çalışma için gereken etik kurul onayı, 22.05.2023 tarihinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 09/04 karar numaralı ve TÜTF-GOBAEK 2023/213 protokol kodlu belge ile alınmıştır (*Ek 2*).

Çalışma TÜBAP tarafından 21.06.2023 tarihli ve 2023/85 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmaya Dahil Edilecek Örneklem Grubu İçin Kabul ve Dışlama Kriterleri

ÖRNEKLEM GRUBU İÇİN KABUL VE DIŞLAMA KRİTERLERİ			
KABUL KRİTERLERİ		DIŞLAMA KRİTERLERİ	
OLGU GRUBU	KONTROL GRUBU	OLGU GRUBU	KONTROL GRUBU
Esansiyel hipertansiyon tanısını yeni almış ve ilaç tedavisine başlamamış olmak	Esansiyel hipertansiyon tanısı almamış olmak	Esansiyel hipertansiyon için ilaç tedavisi görüyor olmak	Esansiyel hipertansiyon tanısı almış olmak
Ek bir kronik hastalığa (Koroner kalp hastalığı, Diabetes Mellitus, kanser vb.) sahip olmamak	Ek bir kronik hastalığa (Koroner kalp hastalığı, Diabetes Mellitus, kanser vb.) sahip olmamak	Ek bir kronik hastalığa (Koroner kalp hastalığı, Diabetes Mellitus, kanser vb.) sahip olmak	Ek bir kronik hastalığa (Koroner kalp hastalığı, Diabetes Mellitus, kanser vb.) sahip olmak
18 yaşından büyük olmak	18 yaşından büyük olmak	18 yaşından küçük olmak	18 yaşından küçük olmak

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik Venöz Kan Örneklerinden Serum Eldesi ve Muhafazası

Örneklem grubuna dahil edilen gönüllülerden alınan periferik venöz kan örnekleri, 3000 rpm’de (Revolutions per Minute / Dakikadaki Devir Sayısı) 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazda toplanan serum, 2 mL’lik tüpe aktarılmış ve -80 derecede muhafaza edilmiştir.

3.2.2. İzolasyon Aşaması

Serumdan eksozomal miRNA izolasyonu için exoRNeasy Midi Kit (Qiagen, Cat no: 77144, Almanya) kullanılmıştır.

3.2.2.1. Serumdan Eksozom İzolasyonu

İzolasyon aşamasına başlamadan önce kit içerisinde bulunan Buffer RWT üzerine 30 mL, Buffer RPE üzerine 44 mL %100 alkol eklenmiştir.

1. -80 derecede muhafaza edilen serum örnekleri, soğuk blok üzerinde eritilmiştir.
2. Eriyen serum örnekleri maksimum devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
3. Tüpün içerisinde 1 mL kalana kadar çekilen fazla serum örneği, yedek olarak saklanması amacıyla yeni tüp setine aktarılmış ve -80 dereceye kaldırılmıştır.
4. Tüpün içerisinde kalan 1 mL örneğin üzerine 1 mL XBP Buffer eklenmiş ve vortekslenmiştir.
5. XBP Buffer – örnek karışımından 1 mL exoEasy spin kolonuna aktarılmıştır.
6. Kolon, 5000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
7. Geri kalan XBP Buffer – örnek karışımının tamamı exoEasy spin kolonuna aktarılmıştır.
8. Kolon, 5000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
9. Kolon altında biriken süpernatant atılmıştır.
10. Kolona 3,5 mL XWP Buffer eklenmiştir.
11. Kolon, 5000 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
12. Kolon altı değiştirilmiştir.
13. Kolona 700 mikrolitre (µl) Qiazol eklenmiştir.
14. Kolon, 5000 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
15. Kolon altında biriken lizat, 2 mL'lik yeni tüp serisine aktarılmıştır.

3.2.2.2. Eksozomdan miRNA İzolasyonu

1. Lizat üzerine 90 µl kloroform eklenmiş ve vortekslenmiştir.
2. Oda ısısında 3 dakika inkübe edilmiştir.
3. 12000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
4. Tüpün içerisinde oluşan iki farklı fazdan üstte yer alan süpernatant (400 µl) çekilmiş ve 2 mL'lik yeni tüp serisine aktarılmıştır.

5. 1 hacim örneğe 2 hacim %100 alkol eklenmesi gerektiğinden süpernatant üzerine 800 µl %100 alkol eklenmiş ve vortekslenmiştir.
6. RNeasy MinElute spin kolonuna 700 µl örnek eklenmiştir.
7. 8000 x g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
8. Kolon altı değiştirilmiştir.
(6, 7 ve 8. adımlar örnek hacminin tamamı kolondan geçene kadar tekrarlanmıştır.)
9. Kolona 700 µl RWT Buffer eklenmiştir.
10. 8000 x g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
11. Kolon altı değiştirilmiştir.
12. Kolona 500 µl RPE Buffer eklenmiştir.
13. 8000 x g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
14. Kolon altı değiştirilmiştir.
15. Kolona 500 µl RPE Buffer eklenmiştir.
16. 8000 x g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
17. Kolon altı değiştirilmiştir.
18. Kolon maksimum devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir.
19. Kolon altı atılmış ve kolon 1,5 mL'lik toplama tüpüne aktarılmıştır.
20. Kolona 7 µl RNase-free Water eklenmiştir.
21. Kolon maksimum devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
22. Kolona 7 µl daha RNase-free Water eklenmiştir.
23. Kolon maksimum devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
24. Kolon atılmıştır.

Eksozomal miRNA izolasyonu gerçekleştirilen örnekler uzun süreli depolama için 1,5 mL'lik toplama tüplerinde -80 derecede muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Eksozomal miRNA Konsantrasyon ve Spektrum Ölçümü

Thermo Scientific Nanodrop 2000c Spektrofotometre cihazı kullanılarak eksozomal miRNA konsantrasyon ve spektrum ölçümü yapılmıştır.

1. Nanodrop 2000 programında nükleik asit seçilmiş ve RNA sekmesi açılmıştır.
2. 2 µl RNase-free Water ile blank işlemi yapılmıştır.

3. 2 µl örnek hacmi ile konsantrasyon ve spektrum ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Her bir örnek için ölçülen konsantrasyon ve spektrum değerleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Konsantrasyon ve Spektrum Değerleri

OLGU GRUBU			KONTROL GRUBU		
KOD	KONSANTRASYON	SPEKTRUM DEĞERİ	KOD	KONSANTRASYON	SPEKTRUM DEĞERİ
H1	50,6 ng/ul	1,47	K1	65,6 ng/ul	1,48
H2	72,5 ng/ul	1,62	K2	268,6 ng/ul	1,84
H3	52,6 ng/ul	1,49	K3	127,1 ng/ul	1,56
H4	90,1 ng/ul	1,57	K4	116,6 ng/ul	1,54
H5	85,6 ng/ul	1,52	K5	74,4 ng/ul	1,5
H6	61,3 ng/ul	1,57	K6	42,9 ng/ul	1,47
H7	57,6 ng/ul	1,51	K7	68,1 ng/ul	1,48
H8	45,0 ng/ul	1,5	K8	87,3 ng/ul	1,48
H9	38,6 ng/ul	1,52	K9	22,7 ng/ul	1,47
H10	37,6 ng/ul	1,52	K10	60,7 ng/ul	1,49
H11	48,6 ng/ul	1,53	K11	63,7 ng/ul	1,51
H12	42,3 ng/ul	1,46	K12	87,8 ng/ul	1,52
H13	25,8 ng/ul	1,52	K13	89,7 ng/ul	1,49
H14	39,8 ng/ul	1,48	K14	39,1 ng/ul	1,52
H15	66,0 ng/ul	1,46	K15	96,4 ng/ul	1,44
H16	48,8 ng/ul	1,46	K16	68,8 ng/ul	1,47
H17	46,8 ng/ul	1,48	K17	62,3 ng/ul	1,46
H18	30,0 ng/ul	1,51	K18	46,2 ng/ul	1,43
H19	85,6 ng/ul	1,51	K19	52,4 ng/ul	1,48
H20	28,6 ng/ul	1,51	K20	46,4 ng/ul	1,44
H21	37,6 ng/ul	1,51	K21	52,7 ng/ul	1,51
H22	73,1 ng/ul	1,49	K22	31,4 ng/ul	1,46
H23	163,9 ng/ul	1,64	K23	72,7 ng/ul	1,61
H24	48,3 ng/ul	1,48	K24	48,4 ng/ul	1,49
H25	66,6 ng/ul	1,47	K25	43,7 ng/ul	1,45

3.2.4. Reverse Transkripsiyon Aşaması

Reverse Transkripsiyon reaksiyonu için miRCURY LNA RT Kiti (Qiagen, 339340, Almanya) kullanılmıştır.

RT reaksiyonuna başlamadan önce kit içerisinde liyofilize halde bulunan Uni SP6 spike-in kalıp RNA üzerine 80 µl RNase-free Water eklenmiş ve vortekslenmiştir.

RT aşaması soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmiştir.

1. Örnekler -80 dereceden alınıp soğuk blok üzerinde eritilmiştir.

2. Kullanılan kit için uygun olan protokole göre mix hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3. 3. Reverse Transkripsiyon Reaksiyonunun Bileşenleri ve Hacimleri

REAKSİYON BİLEŞENLERİ	HACİM
5x miRCURY RT Reaksiyon Buffer	2 µl
RNase-free Water	4,5 µl
10x miRCURY RT Enzim Mix	1 µl
Sentetik RNA spike-in (Opsiyonel)	0,5 µl
Kalıp RNA	2 µl
Toplam reaksiyon hacmi	10 µl

3. Hazırlanan mix, 8 µl olmak üzere 0,2 mL'lik PCR tüplerine dağıtılmıştır.
4. Dağıtılan mix üzerine 2 µl kalıp RNA pipetaj yapılarak eklenmiştir.
5. 0,2 mL'lik PCR tüplerine vorteks-spin atılmıştır.
6. Tüpler Labcycler SensoQuest PCR cihazına yüklenmiş ve uygun PCR protokolü (Çizelge 3.4) ayarlanarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3. 4. Reverse Transkripsiyon PCR Protokolü

Adım	Süre	Sıcaklık
Reverse transkripsiyon adımı	60 dakika	42°C
Reaksiyon inaktivasyonu	5 dakika	95°C
Depolama	Sonsuz	4°C

PCR sonrası uzun süreli depolama için örnekler -20 derecede muhafaza edilmiştir.

3.2.5. Real Time qPCR Aşaması

RT-qPCR reaksiyonunu gerçekleştirmek için miRCURY LNA SYBR Green PCR Kiti (Qiagen, Almanya, 339345) kullanılmıştır.

Bu aşama soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Her bir örnek, üç tekrar olmak üzere çalışılmıştır.

RT-qPCR aşamasına başlamadan önce liyofilize assay'ler (eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p, eksozomal miR-1296-5p) , 220 µl nuclease-free water eklenerek sulandırılmış ve vorteks-spin atılmıştır.

RT aşaması sonucunda elde edilen cDNA'lar sulandırılmıştır. (10 µl cDNA için 590 µl RNase-free water)

1. Kullanılan kit için uygun olan protokole göre (Çizelge 3.5) her bir assay için ayrı mix hazırlanmıştır (eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p, eksozomal miR-1296-5p ve U6 küçük nükleer RNA (snRNA)).

Çizelge 3. 5. RT-qPCR reaksiyonunun bileşenleri ve hacimleri

REAKSİYON BİLEŞENLERİ	HACİM
2x miRCURY SYBR Green Master Mix	5 µl
PCR primer mix	1 µl
RNase-free water	1 µl
Kalıp cDNA	3 µl
Total reaksiyon hacmi	10 µl

2. Hazırlanan mix soğuk blok üzerinde bulunan 0,1 mL'lik PCR tüplerine 7 µl olmak üzere dağıtılmıştır.
3. Dağıtılan mix üzerine pipetaj yapılarak 3 µl kalıp cDNA eklenmiştir.
4. Hazırlanan örnekler Qiagen Rotor-Gene Q cihazına yüklenmiştir.
5. Cihaz, Çizelge 3.6'da verilen koşullara göre ayarlanmış olan programında çalıştırılmıştır.

Çizelge 3. 6. RT-qPCR protokolü

ADIM	SÜRE	SICAKLIK	DÖNGÜ SAYISI	RAMP HIZI
PCR başlangıç ısı aktivasyonu	2 dakika	95°C	1	Maksimum/hızlı mod
2-adımlı döngü				
Denatürasyon	10 saniye	95°C	40	Maksimum/hızlı mod
Bağlanma / uzama	60 saniye	56°C		Maksimum/hızlı mod

3.2.6. Hesaplamalar ve İstatistiksel Değerlerin Saptanması

1. Çalışılan genin Ct değerinden Housekeeping genin Ct değeri çıkartılarak kontrol grupları dahil tüm örnekler için; üçlü tekrar şeklinde çalışılan örneklerin ortalama ΔCt (Delta Cycle threshold / Delta döngü eşiği) değerleri hesaplanmıştır.
2. Bu hesaplamanın ardından çalışılan genlerin ΔCt değerlerinden, kontrol grubunun ortalama ΔCt değerleri çıkarılmış ve $\Delta\Delta Ct$ (Delta delta Cycle threshold / Delta delta döngü eşiği) değerleri saptanmıştır.
3. $\Delta\Delta Ct$ değerleri hesaplandıktan sonra, her bir örnek için $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.7).

4. $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri, istatistiksel açıdan değerlendirilmiş; hasta ve kontrol grubu arasında $p < 0,05$ olan eksozomal miRNA'ların ekspresyon değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 3. 7. $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ Değerleri

	$2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ DEğERİ				$2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ DEğERİ		
OLGU	miR-21-5p	miR-155-5p	miR-1296-5p	KONTROL	miR-21-5p	miR-155-5p	miR-1296-5p
H1	156738,5	1280,064	1032,55	K1	137397,9	700,3829	180,0183
H2	1654541	5487,754	2840,64	K2	122125,1	206,7868	44,0784
H3	76756,43	720,0733	402,264	K3	271012,5	3378,109	20,99538
H4	57369,65	288,4145	1219,44	K4	20566,38	9,526855	17,17216
H5	681332,7	13142,94	7444,71	K5	53527,77	1490,933	1153,658
H6	9528,279	13,66408	152,43	K6	33876,57	72,60515	151,3768
H7	335976,3	145,2103	391,264	K7	59805,89	516,2765	1202,649
H8	141260,6	444554,3	182,531	K8	130890,4	886,5142	2860,398
H9	100581,1	5681,279	9039,33	K9	38378,22	231,0402	1,582275
H10	171517,9	1353,051	3023,49	K10	584968,7	6994,475	16069,08
H11	19728,59	370,1587	51,6967	K11	313477	810,1246	434,135
H12	15265,64	2,679567	138,333	K12	41418,85	224,7224	229,4443
H13	565042,6	10029,76	681,231	H13	165675,4	9,012954	99,87142
H14	130890,4	2339,525	35,5555	K14	26579,01	1306,961	1913,502
H15	810245,7	33,63753	6216,99	K15	288457,7	10528,41	90,00916
H16	3425777	70337,19	16635,8	K16	105581,7	2860,398	580,8412
H17	18664,38	997,3804	613,96	K17	252863,6	11362,56	1913,502
H18	77290,31	220,0977	12,1426	K18	491898,1	1091,427	14889,42
H19	72114,41	2182,854	750,652	K19	47908,7	1501,304	212,6003
H20	129088,4	1129,916	4217	K20	16475,1	150,3311	298,5854
H21	1785628	41246,96	148,261	K21	147259,4	21203,28	1810,284
H22	48577,48	1076,401	206,787	K22	65445,21	667,2113	298,5854
H23	29696,39	57,76005	81,685	K23	3585,603	24,62412	1,435945
H24	93845,5	1748,619	357,55	K24	9462,463	55,40714	55,40714
H25	443323,4	838,6936	300,662	K25	164531	278,5901	32,04439

Yapılan hesaplama sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi ile çalışılan genlerin biyobelirteç potansiyellerini tartışmak mümkün olmuştur.

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonuçları ortalama $\pm$ standart sapma ya da sayı (%) olarak ifade edilmiştir. Niceliksel verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile

incelenmiştir. Olgu ve kontrol grupları arasındaki niceliksel değerler karşılaştırıldığında verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Olgu ve kontrol grupları arasında kategorik verilerin karşılaştırılması amacıyla Yates ki-kare testi kullanılmıştır. Eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ile niceliksel değişkenler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, SKB ve DKB, LDL ve HDL değerleri, total kolesterol değerleri, sigara alkol kullanımı ve aile öyküsü faktörlerinin miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p üzerine etkisini incelemeye Faktorial ANOVA yöntemi kullanılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık açısından sınır değer olarak kabul edilmiştir. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen istatistiksel analizler, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'nda SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Örneklem Grupları Arasında Niceliksel Değerlerin ve Kategorik Verilerin Karşılaştırması

Çalışmaya dahil edilen bireylerin; yaş, cinsiyet, VKİ, SKB, DKB, LDL, HDL, total kolesterol, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve aile öyküsü gibi EH ile ilişkili olabilecek demografik özellikleri belirlenmiştir. Belirlenen demografik özellikler, uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Olgü ve kontrol gruplarına ait demografik özelliklerin karşılaştırılması

	ÖRNEKLEM GRUBU		p-değeri
	OLGU (n=25)	KONTROL (n=25)	
Yaş (yıl)	50.2 ± 9.6	33.2 ± 10.6	0.000 ^a
VKİ (kg/m ²)	26.0 ± 3.5	22.8 ± 4.3	0.003 ^a
SKB (mmHg)	157.8 ± 16.7	114.4 ± 10.4	0.000 ^a
DKB (mmHg)	93.2 ± 10.6	73.2 ± 8.8	0.000 ^a
LDL (mg/dl)	133.8 ± 28.7	111.6 ± 31.0	0.010 ^a
HDL (mg/dl)	47.6 ± 12.1	54.0 ± 15.0	0.140 ^a
Total Kolesterol (mg/dl)	204.5 ± 55.1	178.5 ± 15.0	0.043 ^a
Cinsiyet	%50	%50	0.567 ^b
Kadın	%44,8	%55,2	
Erkek	%57,1	%42,9	
Sigara	%50	%50	1,000 ^b
Evet	%50	%50	
Hayır	%40	%40	

Alkol	%50	%50	0,741 ^b
Evet	%41,7	%58,3	
Hayır	%52,6	%47,4	
Aile Öyküsü	%50	%50	0,560 ^b
Evet	%45,2	%54,8	
Hayır	%57,9	%42,1	

VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, Ortalama $\pm$ Standart Sapma, n (%), ^a Mann Whitney U test, ^b Yates ki-kare test

4.2. Örneklem Grupları Arasında Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması

Yapılan tez çalışmasının amacı, yeni tanı almış EH hastalarından oluşan olgu grubu ile sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasındaki eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon seviyelerinde meydana gelen farklılıkların saptanması yoluyla biyobelirteç potansiyellerini incelemektir.

RT-qPCR yöntemi sonucunda her bir örnek için elde edilen $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri, Mann Whitney U testi kullanılarak istatistiksel anlamda analiz edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2. Ekspresyon analizi yapılan eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p'nin olgu ve kontrol grupları arasında ekspresyon değerlerine göre istatistiksel karşılaştırması

	ÖRNEKLEM GRUBU		p-değeri
	OLGU (n=25)	KONTROL (n=25)	
miR-21-5p	442031.2 $\pm$ 782034.0	143726.7 $\pm$ 150515.4	0.269 ^a
miR-155-5p	24211.1 $\pm$ 88971.0	2662.4 $\pm$ 4962.8	0.290 ^a
miR-1296-5p	2247.1 $\pm$ 3904.8	1782.4 $\pm$ 4197.8	0.197 ^a

Ortalama $\pm$ Standart Sapma, n (%), ^a Mann Whitney U test

Yapılan analiz sonucunda eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon seviyelerinin; olgu ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır.

4.3. Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p Ekspresyon Seviyelerinin Örneklem Grubuna ait Çeşitli Parametreler ile İlişkisi

Olgu veya kontrol grubuna dahil olma durumundan bağımsız olarak bireylerin her biri; cinsiyet, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve aile öyküsü açısından karşılaştırılmış ve bu parametrelerin eksozomal mir-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ile ilişkisi Mann Whitney U testi kullanılarak analiz edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 3. Eksozomal miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ekspresyon seviyelerinin; gruplar, cinsiyet, sigara, alkol ve aile öyküsü parametreleri ile ilişkisi

		Sayı	miR-21-5p	miR-155-5p	miR-1296-5p
			Ortalama ± Standart Sapma	Ortalama ± Standart Sapma	Ortalama ± Standart Sapma
Grup	Olgu	25	442031.2 ± 782034.0	24211.1 ± 88971.0	2247.1 ± 3904.8
	Kontrol	25	143726.7 ± 150515.4	2662.4 ± 4962.8	1782.4 ± 4197.8
	p-değeri		0,269	0,290	0,197
Cinsiyet	Kadın	29	277850.7 ± 440113.3	19033.5 ± 82276.1	1529.4 ± 2968.5
	Erkek	21	313632.4 ± 738061.7	5708.0 ± 15281.7	2685.0 ± 5140.8
	p-değeri		0,443	0,761	0,821
Sigara	0	30	309251.3 ± 430909.7	18702.9 ± 80863.8	1944.0 ± 3954.9
	1	20	268320.5 ± 758425.4	5537.6 ± 15671.3	2121.0 ± 4215.2
	p-değeri		0,017	0,513	0,882
Alkol	0	38	350515.0 ± 645819.2	17030.3 ± 72442.1	2045.5 ± 4308.8
	1	12	110365.0 ± 184850.9	2057.3 ± 3815.7	1917.3 ± 3081.7
	p-değeri		0,038	0,352	0,820
Aile Öyküsü	0	19	238100.0 ± 406386.4	27241.3 ± 101508.6	1483.8 ± 3392.4
	1	31	326453.2 ± 665062.2	4976.0 ± 12991.9	2340.2 ± 4380.9
	p-değeri		0,928	0,944	0,920

Ortalama ± Standart Sapma, 0: Hayır, 1: Evet, Mann Whitney U testi

Yapılan analiz sonucunda belirlenen parametreler ile eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

4.4. Eksozomal miR-21-5p, Eksozomal miR-155-5p ve Eksozomal miR-1296-5p ile Çeşitli Parametreler Arasındaki Korelasyon İlişkisi

Tez çalışmasına dahil olan bireylerin yaş, VKİ, SKB, DKB, LDL, HDL, ve total kolesterol olmak üzere belirlenen niceliksel değişkenlerinin; EH hastası olma veya olmama durumundan bağımsız olarak eksozomal miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ekspresyon seviyeleri ile gösterdiği korelasyon ilişkisi Spearman korelasyon analizi değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4). Ayrıca örneklem grubuna dahil olan bireyler için belirlenen yaş, cinsiyet, VKİ, SKB, DKB, LDL, HDL, total kolesterol gibi niceliksel değişkenlerin yanı sıra sigara kullanma durumu, alkol kullanma durumu ve aile öyküsü gibi parametrelerin; eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon seviyesi üzerine etkisi Faktorial ANOVA testi ile analiz edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 4. Örneklem grubuna ait parametreler ile eksozomal miRNA ekspresyon seviyeleri arasında gözlenen korelasyon ilişkisi

		Yaş (yıl)	VKİ (kg/m ²)	SKB (mmHg)	DKB (mmHg)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Total Kolesterol (mg/dl)
miR-21-5p	r	.279*	0.195	0.090	0.007	-0.130	0.048	-0.111
	p	0.050	0.176	0.536	0.963	0.369	0.742	0.444
miR-155-5p	r	0.382**	0.352*	0.076	0.092	-0.011	-0.112	-0.033
	p	0.006	0.012	0.601	0.526	0.940	0.439	0.818
miR-1296-5p	r	0.248	0.237	0.182	0.163	0.083	0.033	0.160
	p	0.083	0.097	0.205	0.259	0.564	0.819	0.266

VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, r: Korelasyon katsayısı, Spearman Korelasyon Analizi

Çizelge 4. 5. Eksozomal miR-21-5p, miR-155-5p ve miR-1296-5p ile değişken olmayan sabit değer, gruplar, yaş, VKİ, SKB, DKB, LDL, total kolesterol, cinsiyet, sigara – alkol kullanımı ve aile öyküsü arasındaki korelasyon ilişkisi

miR-21-5p				
	Beta	Standart Hata	t-değeri	p-değeri
Sabit	413906,225	869947,792	0,476	0,637
[Grup=1]	26570,135	394421,392	0,067	0,947
[Grup=2]	0 ^a			
Yaş (yıl)	23070,919	10931,415	2,111	0,042
VKİ (kg/m ²)	-3870,908	25393,703	-0,152	0,880
SKB (mmHg)	3175,577	9360,430	0,339	0,736
DKB (mmHg)	-5030,424	13933,381	-0,361	0,720
LDL (mg/dl)	-6730,543	5461,398	-1,232	0,226
HDL (mg/dl)	-303,823	7963,828	-0,038	0,970
Total Kolesterol (mg/dl)	-1,643	3612,832	0,000	1,000
[Cinsiyet=1.00]	-84426,114	225778,120	-0,374	0,711
[Cinsiyet=2.00]	0 ^a			
[Sigara=0]	-244857,358	279170,440	-0,877	0,386
[Sigara=1]	0 ^a			
[Alkol=0]	85017,430	316048,439	0,269	0,789
[Alkol=1]	0 ^a			
[Aile Öyküsü=0]	-113570,330	185835,148	-0,611	0,545
[Aile Öyküsü=1]	0 ^a			
miR-155-5p				
	Beta	Standart Hata	t-değeri	p-değeri
Sabit	-13707,031	90877,300	-0,151	0,881
[Grup=1]	-14477,996	41202,416	-0,351	0,727
[Grup=2]	0 ^a			
Yaş (yıl)	1352,547	1141,928	1,184	0,244
VKİ (kg/m ²)	4786,148	2652,701	1,804	0,079
SKB (mmHg)	1002,233	977,818	1,025	0,312
DKB (mmHg)	-1503,821	1455,522	-1,033	0,308
LDL (mg/dl)	-574,914	570,514	-1,008	0,320
HDL (mg/dl)	-412,951	831,925	-0,496	0,623
Total Kolesterol (mg/dl)	-227,642	377,407	-0,603	0,550
[Cinsiyet=1.00]	864,604	23585,445	0,037	0,971
[Cinsiyet=2.00]	0 ^a			
[Sigara=0]	-10605,122	29162,964	-0,364	0,718
[Sigara=1]	0 ^a			
[Alkol=0]	-24130,134	33015,348	-0,731	0,469
[Alkol=1]	0 ^a			
[Aile Öyküsü=0]	24162,919	19412,885	1,245	0,221
[Aile Öyküsü=1]	0 ^a			

miR-1296-5p				
	Beta	Standart Hata	t-değeri	p-değeri
Sabit	2961,167	6497,721	0,456	0,651
[Grup=1]	220,858	2945,970	0,075	0,941
[Grup=2]	0 ^a			
Yaş (yıl)	131,535	81,648	1,611	0,116
VKİ (kg/m²)	19,136	189,668	0,101	0,920
SKB (mmHg)	2,874	69,914	0,041	0,967
DKB (mmHg)	-81,782	104,070	-0,786	0,437
LDL (mg/dl)	-29,080	40,792	-0,713	0,480
HDL (mg/dl)	46,231	59,483	0,777	0,442
Total Kolesterol (mg/dl)	17,086	26,985	0,633	0,531
[Cinsiyet=1.00]	-2049,546	1686,358	-1,215	0,232
[Cinsiyet=2.00]	0 ^a			
[Sigara=0]	342,822	2085,150	0,164	0,870
[Sigara=1]	0 ^a			
[Alkol=0]	-1538,339	2360,595	-0,652	0,519
[Alkol=1]	0 ^a			
[Aile Öyküsü=0]	-1314,569	1388,020	-0,947	0,350
[Aile Öyküsü=1]	0 ^a			

VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, Faktorial ANOVA testi

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

KVH ve komplikasyonları, dünya çapında önde gelen morbidite ve mortalite nedeni olarak tanımlanmaktadır (Lekka & Hall, 2018). KVH'nin oluşumunda; aile öyküsü, cinsiyet ve yaş faktörleri etkili olmaktadır. Bu faktörlerin yanı sıra; sigara ve alkol kullanımı, dislipidemi, diabetes mellitus, hareketsiz yaşam tarzı, sağlıksız beslenme ve stres gibi müdahale edilebilir ve değiştirilebilir faktörler de KVH oluşumunda rol oynamaktadır (Dai vd., 2020). Öte yandan miyokard, dış stres faktörlerine yanıt olarak yeniden şekillenebilmektedir (Lekka & Hall, 2018).

Endotel hücreleri, VDKH'ler, enflamatuvar hücreler ve adventisyal fibroblastlar; EV'lerin alt sınıflarından biri olan eksozomlar aracılığıyla iletişim kurabilmektedir (Ren & Zhang, 2023). Bu noktada KVH'nin teşhis ve tedavisi için eksozomların potansiyel stratejiler sağlayabileceği düşünülmektedir (Ghafarian vd., 2019). Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda, ncRNA'ların alt tiplerinden biri olan miRNA'lar, KVH'lerin kritik düzenleyicileri olarak ilgi görmektedir (Dai vd., 2020). miRNA'lar, vasküler gelişim ve anjiyogeneizde kilit rol oynayabilmektedir (Lekka & Hall, 2018).

Bireyin KVH geliştirme potansiyelini doğru şekilde öngörebilecek güvenilir biyobelirteçlerin klinikte kullanımı ve hali hazırda hastalığa sahip olan bireylerin tedavi edilmesi için yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir (Ghafarian vd., 2019). Eksozomlar, miRNA'ların taşıyıcılarıdır ve dolaşımdaki miRNA'ların yanı sıra eksozomal

miRNA'ların da biyobelirteç potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Biyobelirteç potansiyeli taşıdığı düşünülen miRNA'lar, hasta ve sağlıklı bireyleri kapsayan örneklem gruplarından alınan klinik örnekler kullanılarak ekspresyon düzeylerinde meydana gelen artma veya azalma durumlarının analizi ile tanımlanabilmektedir (Ren & Zhang, 2023).

Tez çalışması kapsamında EH'de eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerini araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda oluşturulan örneklem grubu; EH'ye sahip 25 bireyden oluşan olgu grubunu ve sağlıklı 25 bireyden oluşan kontrol grubunu kapsamaktadır. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerden periferik venöz kan örnekleri toplanmış ve bu örneklerden eksozomal miRNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen eksozomal miRNA'ların gen ekspresyon analizi için RT-qPCR yöntemi kullanılmıştır. EH ve eksozomal miRNA ilişkisi üzerine kapsamlı bir literatür taraması yapılmış olup ekspresyonları incelenmek üzere; eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p genleri seçilmiştir. Normalizasyon standardı olarak U6 snRNA geni kullanılmıştır. Gen ekspresyon düzeyini etkileme durumu göz önüne alınarak; yeni tanı almış ve henüz ilaç tedavisine başlamamış EH hastası bireyler ve ek bir hastalığa sahip olmayan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, uygun istatistiksel yöntemler ile analiz edilmiş olup olgu ve kontrol grupları arasında gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda olgu ve kontrol grubu arasında eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

La Salvia ve arkadaşları (2020), lökosit ve T hücresi kaynaklı EV'lerin dolaşımında ve böbrek dokusunda yükselerek KB ile korelasyon gösterdiğini saptamış olup dolaşımdan ve böbrekten elde edilen EV'lerin, HT ve HOH için biyobelirteç potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (La Salvia vd., 2020b).

Pironti ve arkadaşları (2015), AT1R ile zenginleştirilmiş eksozomların in vivo hücrel stres koşulları altında kalpten salındığını ve muhtemelen nörohormonal uyarıya karşı vasküler tepkileri modüle ettiğini bildirmiştir (Pironti vd., 2015).

Anormal vasküler reaktivite, hipertansiyonun başlangıcında ve gelişiminde rol oynamaktadır. Fujioka ve arkadaşları (2020), spontan hipertansif sıçanların (SHS) izole kan damarlarının agonistle indüklenen kontraktilesini zayıflatarak KB regülasyonundan

kısmen de olsa eksozomların sorumlu olabileceğini göstermiştir (Fujioka, Otani, Okada & Yamawaki, 2020).

Parthenakis ve arkadaşları (2017), bir yıl süren etkili bir tedaviden sonra arteriyel sertlikte meydana gelen değişiklikler ile ilişkili olabilecek miRNA'ların ekspresyon düzeylerini RT-qPCR yöntemi ile ölçmüşlerdir. miR-21'in düşük ekspresyon düzeyleri, EH'ye sahip hastalardaki arteriyel sertliğin iyileşmesi ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiş ve hipertansif hastalar için gelecekte terapötik bir hedef olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Parthenakis vd., 2017).

Kwon ve arkadaşları (2016), idrar EV'lerinden köken alan miRNA'ların EH ve renovasküler hipertansiyon (RVH) hastaları ile sağlıklı gönüllüler arasında ekspresyon düzeylerini karşılaştırmışlardır. Normalizasyon standardı olarak *C. elegans* miR-39 (cel-miR-39) kullanılmıştır. EH hastalarının sahip olduğu miR-21, miR-93 ve miR-200b ekspresyon düzeyleri RVH ve sağlıklı gönüllülere kıyasla düşük düzeyde saptanmış olup bu miRNA'ların RVH'yi EH'den ayırmak için biyobelirteç potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir (Kwon vd., 2016).

Kontaraki ve arkadaşları (2014), EH'de VDKH'nin fenotipik modülasyonunda rol oynadığı bilinen miRNA'ların ekspresyon düzeylerini RT-qPCR yöntemi ile tespit etmiş ve normalizasyon standardı olarak U6 snRNA genini kullanmışlardır. Elde edilen veriler, sağlıklı bireylere kıyasla EH hastası bireylerde miR-21 ve miR-1 ekspresyon düzeylerinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (Kontaraki, Marketou, Zacharis, Parthenakis & Vardas, 2014a).

Kara ve arkadaşları (2021), Dijital Droplet PCR yöntemini kullanarak DH'de miR-21 ve miR-155 ekspresyon düzeylerini araştırmışlardır. Hasta ve sağlıklı bireyler arasında miR-155 ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamış olup miR-21'in hasta bireylerde daha yüksek düzeyde eksprese olduğu belirlenmiştir. Ayrıca miR-21 ekspresyon düzeyinin; aldosteron, yaş, SKB ve AKB ölçümü ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Ancak hasta sayısının nispeten kısıtlı olması ve gruplar arasındaki yaş ortalaması farkının büyük olması; çalışmayı kısıtlayan başlıca faktörler olarak belirtilmiştir (Kara vd., 2021).

AT1R'nin 3' UTR'sinde lokalize olan +1166 Adenin (A) / Sitozin (C) SNP'si HT ve KV komplikasyonları ile ilişkilendirilmektedir. Bu mutant allel spesifik olarak miR-

155 tarafından tanınmaktadır. Ceolotto ve arkadaşları (2011), RT-qPCR yöntemi ile birlikte endojen kontrol olarak RNU48 genini kullanmışlardır. miR-155 ekspresyonunun CC genotipine sahip bireylerde AA ve AC genotipine sahip bireylere kıyasla anlamlı derecede azaldığını göstermişlerdir. Aynı zamanda miR-155 ekspresyon düzeyinin SKB ve DKB ile negatif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Böylece miR-155 ekspresyonu ile +1166 C polimorfizmi ve AT1R protein ekspresyonu arasındaki etkileşimin, KB'nin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (Ceolotto vd., 2011).

SVH, HT'de HOH'nin en önemli göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir. Huang ve arkadaşları (2016), EH'ye sahip bireylerden oluşan hasta grubunda ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda RT-qPCR yöntemi ile miR-155 ekspresyon düzeylerini ölçmüştür. Normalizasyon standardı olarak cel-miR-54 geni kullanılmıştır. EH'ye sahip hastalarda miR-155 ekspresyonunun daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Ayrıca miR-155 ekspresyon düzeyinin SKB, DKB, nabız basıncı ve LVH ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Böylece dolaşımdaki miR-155 ekspresyon düzeyinin, EH'ye sahip hastalar için invaziv olmayan potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği ve HOH'yi temsil edebileceği belirtilmiştir (Huang vd., 2016).

VDKH'nin göçü, HT dahil olmak üzere çeşitli vasküler hastalıklar için vasküler yeniden şekillenmede rol oynamaktadır. Wu ve arkadaşları (2020), RT-qPCR yönteminde normalizasyon için U6 snRNA genini kullanarak SHS'de miR-155-5p'nin VDKH göçünü engelleme açısından önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Wu vd., 2020).

Yavuzer ve arkadaşları (2017), RT-qPCR yöntemini kullanarak miR-125a ve miR-155'in plazma ekspresyon seviyelerini; hipertansif bireyler, beyaz önlük HT'sine sahip bireyler ve normotansif sağlıklı bireyler arasında karşılaştırmıştır. Çalışmada normalizasyon standardı olarak RNU6B genini kullanmışlardır. Gruplar arasında çalışmaya dahil edilen olgu sayısının az olması nedeni ile miR-125a ve miR-155 ekspresyon düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadığı belirtilmiştir. Tüm gruplarda miR-125a ile miR-155 arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmış olup miR-155 ekspresyon seviyesi ile bel çevresi ölçümü arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır (Yavuzer vd., 2017).

Niu ve arkadaşları (2021), RT-qPCR yönteminde endojen kontrol olarak U6 snRNA genini kullanmış olup eksozomal miRNA'ların plazma miRNA'lara kıyasla daha fazla tanınal etkinliğe sahip olduğunu ve eksozomal miR-369-3p, miR-493-3p, miR-379-5p ve miR-1296-5p'nin BAA inme için biyobelirteç potansiyeli taşıdığını bildirmişlerdir. Ayrıca iskemik inmeye sahip hastalarda eksozomal miR-493-3p ve miR-1296-5p'nin ekspresyon düzeyleri ile NIHSS skoru arasındaki negatif ilişkiye dayanarak; eksozomal miRNA ekspresyon düzeylerinin bir dereceye kadar hastalığın şiddetini de yansıtabileceğini belirtmişlerdir (Niu vd., 2021).

Perez-Hernandez ve arkadaşları (2018), ekzozom ve MV'lerde bulunan üriner miRNA'ları ölçmüş ve EH'de artmış üriner albümin atılımının (ÜAA) varlığı ile ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada eksozomlar; albüminüresi olan veya olmayan EH hastalarından ve sağlıklı bireylerden alınan idrar örneklerinden elde edilmiş olup RT-qPCR yöntemi ile analiz edilmiş ve normalizasyon standardı olarak cel-miR-39 geni kullanılmıştır. Analiz sonucunda üriner ekzozom miR-146a'nın HT'de erken böbrek hasarı için invaziv olmayan bir biyobelirteç potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir (Perez-Hernandez vd., 2018).

EH, EV'lerin plazma konsantrasyonlarındaki artışı ile ilişkilendirilmektedir. Zou ve arkadaşları (2020), RT-qPCR yöntemi ile birlikte normalizasyon standardı olarak U6 snRNA genini kullanmıştır. EV'lerde taşınan monosit kökenli miR-27a'nın; endotelde Mas reseptör ekspresyonu ile birlikte eNOS fosforilasyonunu azalttığını, Ang-(1-7) aracılı vazodilatasyonu bozduğunu ve HT'ye neden olduğunu bildirmiştir (Zou vd., 2020).

Li ve arkadaşları (2011), insan sitomegalovirüs (HCMV) enfeksiyonu ile EH arasında yeni bir bağlantı olduğu bildirilmiştir. Çalışmada RT-qPCR yöntemi ve endojen kontrol olarak U6 snRNA geni kullanılmıştır. Henüz ilaç tedavisi almamış hipertansif hastalar arasında duyarlılık analizi yapılmış ve HCMV'nin SKB ve DKB ile anlamlı korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca hcmv-miR-UL112 ekspresyonu ile SKB veya DKB arasındaki korelasyon ilişkisinin anti-hipertansif tedavi almayan hastalarda önem arz ettiği belirtilmiştir (Liv vd., 2011).

Huang ve arkadaşları (2017), AS ile ilişkilendirilen miR-92a ekspresyon düzeyini EH hastalarında araştırmıştır. miR-92a ekspresyon düzeyleri RT-qPCR yöntemi ile

saptanmış olup hasta ve sağlıklı bireyler arasında karşılaştırılmıştır. Normalizasyon standardı olarak miR-54 geni kullanılmıştır. miR-92a ekspresyonu, 24 saatlik ortalama SKB, 24 saatlik ortalama DKB ve 24 saatlik ortalama nabız basıncı ile anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir. Çalışma sonucunda miR-92a'nın, hipertansif hastalarda AS için invaziv olmayan potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini bildirmişlerdir (Huang vd., 2017).

Miyokard hasarı ve azalmış ventriküler fonksiyon, EH hastalarında kötü prognoza yol açan risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır. Wang ve arkadaşları (2021), enzim-bağımlı immünoresorben testini (ELISA) kullanarak EH hastalarında serum miR-122 ekspresyon düzeyinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu ve miyokardiyal hasar belirteçleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (Wang & Chen, 2021).

Chu ve arkadaşları (2020), RT-qPCR yönteminde normalizasyon standardı olarak U6 snRNA genini kullanmış ve EH hastalarından toplanan periferik kan örneklerinde miR-136 ekspresyon düzeyinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptamıştır. Hastalara uygulanan iki aylık ilaç tedavisinin ardından yüksek düzeyde miR-136 ekspresyonuna sahip hastaların yüksek terapötik etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Chu, Li, Jia, Diao & Li, 2020).

Kontaraki ve arkadaşları (2014), tedavi edilmemiş EH'ye sahip bireylerden oluşan hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında miR-9 ve miR-126'nın ekspresyon düzeylerini RT-qPCR yöntemi ile değerlendirmiştir. Çalışmada endojen kontrol olarak U6 snRNA geni kullanılmıştır. Hipertansif hastalarda miR-9 ve miR-126 ekspresyon düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmış olup hipertansif hastalarda miR-9 ve miR-126 ekspresyon düzeylerinin 24 saatlik ortalama nabız basıncı ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Kontaraki, Marketou, Zacharis, Parthenakis & Vardas, 2014b).

Parthenakis ve arkadaşları (2016), yeni tanı almış ve henüz tedavi edilmemiş EH'ye sahip bireylerin PKMH'lerinde ilişkili miRNA'ların diferansiyel ekspresyonu ile ÜAA düzeyleri arasındaki ilişkiyi RT-qPCR yöntemi ile incelemiş ve normalizasyon standardı olarak U6 snRNA ekspresyonunu kullanmışlardır. Çalışma sonucunda miRNA-208b ve miRNA-133a ekspresyon düzeylerinin, hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla farklı

bir profil gösterdiği tespit edilmiş ve ÜAA seviyeleri ile güçlü bir korelasyon gösterdikleri belirlenmiştir (Parthenakis vd., 2016).

Marketou ve arkadaşları (2019), EH'ye sahip hastalar ve sağlıklı bireyler arasında trombosit miR-223, miR-126 ve miR-22'nin ekspresyon düzeylerini karşılaştırmak için RT-qPCR yöntemini ve normalizasyon standardı olarak U6 snRNA genini kullanmışlardır. Trombosit miR-223 ve miR-22 ekspresyon düzeylerinin, hastalarda önemli ölçüde azaldığı ve SKB ölçümleri ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca trombosit miR-223, miR-22 ve miR-126 düzeyleri KVH'ye sahip olan bireylerde anlamlı derecede daha düşük düzeyde eksprese olmuş ve kardiyovasküler komplikasyonların varlığına işaret etmiştir. Ancak diyabet ve ilaç tedavisi gibi komorbiditeler, miRNA ekspresyon düzeylerini etkileyebileceğinden çalışmanın kısıtlandığı belirtilmiştir (Marketou vd., 2019).

Zhang ve arkadaşları (2018), HT tanısı ile hastaneye yatırılan bireylerden serum örnekleri toplamış ve 25 adet miRNA'nın gen ekspresyonlarını, hasta ve sağlıklı bireyler arasında RT-qPCR yöntemi ve endojen kontrol olarak miR-16 geni kullanarak karşılaştırmıştır. HT için biyobelirteç olarak; miR-199a-3p, miR-208a-3p, miR-122-5p ve miR-223-3p'nin en yüksek potansiyele sahip olan kombinasyon olduğu belirlenmiştir. Ancak farklı HT alt tiplerinde farklı ekspresyon düzeyleri saptanabileceğinden ve bu çalışmada HT'nin alt tiplerine göre analiz yapılmadığından dolayı çalışma kısıtlanmıştır (Zhang vd., 2018).

Tüm bu araştırma çalışmalarının yanı sıra literatürde yer alan farklı hastalık gruplarında çalışılmış miRNA'ların ekspresyon düzeylerinde görülen anlamlı farklılıklar ve hastalığa özgü terapötik hedef olma potansiyellerini gösteren yayınlar Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5. 1. Literatürde çeşitli hastalıklar için miRNA ekspresyon düzeylerinin ve terapötik hedef potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılan yöntemler ve sonuçları

Referans	Çalışma Konusu	Yöntem	Sonuç
Chen vd., 2013	Kronik Böbrek Hastalığı	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Ekspresyon düzeyi: miR-125b ↓ miR-145 ↓ miR-155 ↓
Bang vd., 2014	Kalp Yetmezliği	RNA dizileme	Potansiyel terapötik hedef: Eksozomal miR-21-3p
Yang vd., 2014	Vasküloproliferatif ve Vasküler Yeniden Şekillenme İlişkili Hastalıklar	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Potansiyel terapötik hedef: miR-155
Xiao vd., 2016	Kalp Hastalığı	RNA interferans	Ekspresyon düzeyi: Eksozomal miR-21 ↓
Wang vd., 2017	Miyokard Enfarktüsü	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Potansiyel terapötik ajan: Eksozomal miR-155 inhibitörü
Lv vd., 2018	Renal Fibrozis	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Ekspresyon düzeyi: Eksozomal miR-29c ↓ Eksozomal miR-21 ↑
Ling, Guo, Shi, Zhang & Song, 2020	Akut Miyokard İnfarktüsü ve Kararsız Anjina	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Ekspresyon düzeyi: miR-126 ↑ PTEN ↑ miR-21 ↓
Wang vd., 2020	Üremik Kardiyomiyopati	RT-qPCR: GAPDH ile normalizasyon	Potansiyel terapötik hedef: Eksozomal miR-155 inhibisyonu
Zhang vd., 2022	Akut Böbrek Hasarı	RT-qPCR: U6 snRNA ile normalizasyon	Potansiyel terapötik hedef: Eksozomal miR-155

Tez çalışması kapsamında örneklem grubuna dahil olan gönüllülerin demografik özellikleri hakkında veriler toplanmıştır. Bu demografik özellikler; yaş, cinsiyet, VKİ, SKB, DKB, LDL, HDL, total kolesterol, sigara-alkol kullanımı ve aile öyküsü olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bu veriler ile eksozomal miRNA ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon analizleri, bireylerin olgu veya kontrol grubuna dahil olmasından bağımsız olarak 50 kişilik bir örneklem grubu için gerçekleştirilmiştir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda eksozomal miR-21-5p ekspresyon düzeyi ile yaş arasında, eksozomal miR-155-5p ekspresyon düzeyi ile yaş

arasında ve eksozomal miR-155-5p ekspresyon düzeyi ile VKİ arasında pozitif korelasyon ilişkisi saptanmıştır.

Yapılan birçok çalışma, spesifik miRNA'ların serum ekspresyon düzeylerinin yaş ile birlikte önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir (Victoria vd., 2015). Yaşlanma, genellikle kaçınılmaz olan bir dizi fizyolojik olaydan meydana gelen bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Bu süreç KVH de dahil olmak üzere yaşa bağlı hastalıklar için risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsan yaşlanması, biyolojik yaşın potansiyel belirleyicileri olarak tanımlanan dolaşımdaki miRNA'ların profili ile karakterize edilebilmekte ve yaşa bağlı gelişen enflamatuar durumlar için risk biyobelirteci olarak kullanılabilmektedir (Accardi vd., 2022).

Accardi ve arkadaşları (2022), yaşları 22 ila 111 arasında değişen bireylerde; miR-146a-5p, miR-126-3p, miR-21-5p ve miR-181a-5p'nin dolaşımdaki ekspresyon düzeylerini RT-qPCR yöntemi ile analiz etmişlerdir. Çalışmada normalizasyon için miR-30a ekspresyonu kullanılmıştır. Analiz sonucunda miR-126-3p ve miR-21-5p ekspresyon düzeyleri yaşlanma ile ilişkilendirilmiştir (Accardi vd., 2022).

Olivieri ve arkadaşları (2012), yaşları 20 ila 100 arasında değişen sağlıklı bireylerde plazma miRNA'larının ekspresyon düzeylerini RT-qPCR yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda miR-21 ekspresyonunun yaşa bağlı olarak gösterdiği monotonik olmayan eğilim, hem göreceli (normalizasyon standardı miR-17-5p) hem de mutlak ölçümler (normalizasyon standardı cel-miR-39) ile doğrulanmıştır. Ayrıca 100 yaşındaki bireylerin sahip olduğu miR-21 ekspresyon düzeylerinin 80 yaşındaki sağlıklı bireylere kıyasla daha düşük düzeyde olması, yaşam süresini uzatan faydalı bir etken olarak yorumlanmıştır (Olivieri vd., 2012).

Chang ve arkadaşları (2022), genç ve yaşlı farelerde Ang II mikropomplarını kullanarak aşırı basınç yüklü fare modeli oluşturmuşlardır. Çalışmada RT-qPCR yönteminde endojen kontrol olarak gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) ekspresyonu kullanılmış ve yaşlı farelerdeki miR-21 ekspresyon düzeyinin genç farelere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Chang vd., 2022).

Lakhter ve arkadaşları (2018), tip 1 diyabet hastası bireylerde ve sağlıklı bireylerde serum EV miR-21-5p ekspresyon düzeyi ile birlikte yaş, VKİ ve Glikozile Hemoglobin (HbA1c) arasındaki korelasyonları ölçmüşlerdir. Ekspresyon düzeyleri

diijital PCR yöntemi ile ölçülmüş olup normalizasyon standardı olarak cel-miR-39 geni kullanılmıştır. Genç yaştaki sağlıklı bireyler, daha yüksek EV miR-21-5p ekspresyon düzeyleri ile korelasyon göstermiş olup bu ilişkinin tip 1 diyabet hastaları arasında mevcut olmadığı tespit edilmiştir. Öte yandan VKİ veya HbA1c ile EV miR-21- 5p ekspresyon düzeyi arasında korelasyon ilişkisi saptanmamış olup cinsiyete bağlı bir ilişki de tespit edilmemiştir (Lakhter vd., 2018).

Dirol ve arkadaşları (2022), RT-qPCR yönteminde normalizasyon standardı olarak miR-16 ekspresyonunu kullanmış olup miR-21 ve miR-590'ın idiyopatik pulmoner fibroziste (İPF) aşırı eksprese edildiğini saptamışlardır. Çalışmada ayrıca İPF hastalarının sahip olduğu miR-21 ve miR-590 ekspresyon seviyelerinin yaş ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Öte yandan sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda, miRNA ekspresyon seviyeleri ile bireylerin yaşları arasında korelasyon ilişkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir (Dirol vd., 2022).

miR-155 serum ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler, enflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarda tanımlanmıştır. Ayrıca yakın zamanda yapılan birçok çalışma, miR-155'in yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıklarda rol oynayabileceğini öne sürmektedir. Tacke ve arkadaşları, RT-qPCR yöntemini kullanarak miR-155 serum ekspresyon düzeylerinin kritik hastalığı olan bireylerde sağlıklı kontrollere kıyasla yükseldiğini saptanmış ve miR-155 ekspresyon seviyesinin 65 yaşından genç hastalarda prognostik bir biyobelirteç olarak yaşa özgü bir rolü olabileceğini bildirmiştir (Tacke vd., 2019).

Cassidy ve arkadaşları (2022), qPCR yönteminde endojen kontrol olarak snoRNA-135 ekspresyonunu kullanmış ve miR-155 ekspresyon düzeyinin yaşlı ve genç fareler arasında önemli farklılıklar gösterdiğini tespit etmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler, miR-155 inhibisyonunun yaşlı ve genç farelerde farklı molekülleri hedef alarak enfeksiyona karşı oluşan bağışıklık tepkilerini farklı şekilde modüle edebileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Cassidy, Sonntag, Leenen & Drevets, 2022).

Onodera ve arkadaşları (2017), genç ve yaşlı farelerin kemik iliğı dokularından mezenkimal kök hücreleri (MKH) izole etmişlerdir. RT-qPCR yönteminde normalizasyon standardı olarak GAPDH ekspresyonu kullanılarak yaşlı farelerin kemik iliğinde ve MKH'de miR-155-5p ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (Onodera vd., 2017).

Tsujimoto ve arkadaşları (2020), miR-155-5p'nin MKH'de mitofajiyi bozduğunu tespit etmişler ve kök hücrelerde miRNA aracılı bir mekanizma ile gerçekleşen mitokondriyal işlev bozukluğu ile yaşlanma ve yaşlanma ilişkili enflamasyonu birbirine bağlayan yeni bir mekanizma önermişlerdir (Tsujimoto vd. 2020).

González-López ve arkadaşları (2022), bireyleri VKİ'nin DSÖ tarafından belirlenen kriterlerine (zayıf, aşırı kilolu ve obez) göre sınıflandırmıştır. RT-qPCR yönteminde endojen kontrol olarak miR-191-5p ekspresyonunu kullanmışlar ve VKİ arttıkça miR-155-5p ekspresyon düzeyinde önemli bir artış olduğunu saptamışlardır (González-López vd., 2022).

Hromadnikova ve arkadaşları (2021), gebelik komplikasyonlarının neden olduğu diyabet, KV ve serebrovasküler hastalıklarla ilişkili miRNA'ların doğum sonrası gen ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikleri tanımlamışlardır. miR-155-5p ekspresyon düzeyinin, gebelik öyküsüne bakılmaksızın normal VKİ'ye sahip anneler ile karşılaştırıldığında aşırı kilolu veya obez annelerde artmış ekspresyona doğru bir eğilim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Öte yandan sistolik HT'nin (miR-92a-3p ve miR-210-3p), infertilite tedavisinin (miR-155-5p) ve HT tedavisinin (miR-210-3p); çeşitli miRNA'ların ekspresyon düzeylerinde değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir (Hromadnikova, Kotlabova & Krofta, 2021).

Mahdavi ve arkadaşları (2018), diyabetik bireylerin ve sağlıklı bireylerin serum örneklerinde miR-155 ekspresyon düzeyini RT-qPCR yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada normalizasyonu sağlamak için miR-16 ekspresyonu kullanılmıştır. Sağlıklı bireylerde, VKİ ile miR-155 ekspresyon düzeyi arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. miR-155-5p'nin azalmış ekspresyon düzeyi, artan kolesterol seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda diyabetik bireylerde bel çevresi ölçümünün miR-155 ekspresyon seviyesi ile negatif bir korelasyona sahip olduğu tespit edilmiştir (Mahdavi vd., 2018).

Korelasyon ilişkisi mutlak nedenselliği göstermemektir. Bu nedenle korelasyon ilişkilerinin klinik açıdan yapılan doğrulama çalışmalarında daha net ve doğrudan kanıtlar elde edilene kadar ön hazırlık olarak kabul edilmesi gerekmektedir (Zhang & Sun, 2021).

BÖLÜM 6

SONUÇ

Bu tez çalışmasında eksozomal miRNA ekspresyon düzeylerinin analiz edilmesi ve EH için biyobelirteç potansiyeli açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda EH ile ilişkili eksozomal miRNA'ların belirlenmesi için literatür taraması yapılmıştır. Yapılan literatür taraması sonucunda eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon düzeylerinin RT-qPCR yöntemi ile belirlenerek biyobelirteç potansiyellerinin incelenmesi ve normalizasyon standardı olarak U6 snRNA geninin kullanılması planlanmıştır.

Planlanan bu tez çalışması için oluşturulan örneklem grubu, EH tanısı almış 25 bireyden oluşan olgu grubunu ve sağlıklı 25 bireyden oluşan kontrol grubunu kapsamaktadır. Ekspresyon düzeyleri üzerinde yanıtıcı etkisi olabileceğinden dolayı; çalışmaya EH için yeni tanı almış olup henüz ilaç kullanmaya başlamamış ve ek hastalığı olmayan bireyler dahil edilmiştir. Ayrıca örneklem grubuna dahil olan bireylerin demografik verileri toplanmış ve çalışma sonunda bu verilerin eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ile ilişkisi incelenmiştir.

Çalışmaya dahil olan gönüllülerden alınan periferik venöz kan örneklerinden serum eksozomal miRNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve RT-qPCR yöntemi ile ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. RT-qPCR sonucunda elde edilen veriler, uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiş olup olgu ve kontrol grupları arasında

karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Örneklem grubunun nispeten az sayıda bireyden oluşmasının ve olgu grubundaki bireylerin yaş ortalamasının kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalamasına oranla daha yüksek olmasının çalışmayı kısıtladığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamasına neden olduğu düşünülmektedir.

Daha sonra örneklem grubundaki bireylere ait demografik veriler ile eksozomal miR-21-5p, eksozomal miR-155-5p ve eksozomal miR-1296-5p arasındaki ilişkiyi incelemek üzere uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak korelasyon analizi yapılmıştır. Yapılan korelasyon analizi sonucunda, bireylerin hasta veya sağlıklı olma durumundan bağımsız olarak çalışma kapsamındaki genel örneklem popülasyonunda; eksozomal miR-21-5p ile yaş arasında, eksozomal miR-155-5p ile yaş ve VKİ arasında pozitif korelasyon ilişkisi saptanmıştır.

Eksozomal miR-21-5p'nin yaş ile, eksozomal miR-155-5p'nin yaş ve VKİ ile ilişkisi üzerine literatür taraması yapılmış ve tez çalışması sonucunda saptanan korelasyon ilişkileri ile tutarlı sonuçlara sahip yayınların mevcut olduğu görülmüştür. Böylece tez çalışmasının mevcut verileri desteklediği ve yapılacak ileri çalışmalar için fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Accardi, G., Bono, F., Cammarata, G., Aiello, A., Herrero, M. T., Alessandro, R., ... & Candore, G. (2022). miR-126-3p and miR-21-5p as hallmarks of bio-positive ageing; correlation analysis and machine learning prediction in young to ultra-centenarian Sicilian population. *Cells*, 11(9), 1505.

Al Ghorani, H., Goetzinger, F., Boehm, M., & Mahfoud, F. (2022). Arterial hypertension–Clinical trials update 2021. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 32(1), 21-31.

Altıntaş, N., Onur, T. O. N. K., & Yılmaz, Ö. S. (2022). Effects of microRNAs in hypertension disease. *The European Research Journal*, 8(1), 131-138.

Appel, L. J., Moore, T. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Svetkey, L. P., Sacks, F. M., ... & Harsha, D. W. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *New England journal of medicine*, 336(16), 1117-1124.

Backes, C., Meese, E., & Keller, A. (2016). Specific miRNA disease biomarkers in blood, serum and plasma: challenges and prospects. *Molecular diagnosis & therapy*, 20, 509-518.

Bang, C., Batkai, S., Dangwal, S., Gupta, S. K., Foinquinos, A., Holzmann, A., ... & Thum, T. (2014). Cardiac fibroblast–derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy. *The Journal of clinical investigation*, 124(5), 2136-2146.

Bátkai, S., & Thum, T. (2012). MicroRNAs in hypertension: mechanisms and therapeutic targets. *Current hypertension reports*, 14(1), 79-87.

Bhatia, K., Elmarakby, A. A., El-Remessey, A., & Sullivan, J. C. (2012). Oxidative stress contributes to sex differences in angiotensin II-mediated hypertension in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 302(2), R274-R282.

Bisogni, V., Cerasari, A., Pucci, G., & Vaudo, G. (2020). Matrix metalloproteinases and hypertension-mediated organ damage: current insights. *Integrated blood pressure control*, 157-169.

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., ... & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments.

Califf, R. M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*, 243(3), 213-221.

Calin, G. A., Liu, C. G., Ferracin, M., Hyslop, T., Spizzo, R., Sevignani, C., ... & Croce, C. M. (2007). Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer cell*, 12(3), 215-229.

- Cao, R. Y., Li, Q., Miao, Y., Zhang, Y., Yuan, W., Fan, L., ... & Yang, J. (2016). The emerging role of microRNA-155 in cardiovascular diseases. *BioMed research international*, 2016.
- Carretero, O. A., & Oparil, S. (2000). Essential hypertension: part I: definition and etiology. *Circulation*, 101(3), 329-335.
- Cassidy, B. R., Sonntag, W. E., Leenen, P. J., & Drevets, D. A. (2022). Systemic *Listeria monocytogenes* infection in aged mice induces long-term neuroinflammation: the role of miR-155. *Immunity & Ageing*, 19(1), 25.
- Ceolotto, G., Papparella, I., Bortoluzzi, A., Strapazzon, G., Ragazzo, F., Bratti, P., ... & Semplicini, A. (2011). Interplay between miR-155, AT1R A1166C polymorphism, and AT1R expression in young untreated hypertensives. *American journal of hypertension*, 24(2), 241-246.
- Chang, W. T., Shih, J. Y., Lin, Y. W., Huang, T. L., Chen, Z. C., Chen, C. L., ... & Liu, P. Y. (2022). miR-21 upregulation exacerbates pressure overload-induced cardiac hypertrophy in aged hearts. *Aging (Albany NY)*, 14(14), 5925.
- Chaudhary, M. (2022). Novel methylation mark and essential hypertension. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1), 1-9.
- Chen, C., Ridzon, D. A., Broomer, A. J., Zhou, Z., Lee, D. H., Nguyen, J. T., ... & Guegler, K. J. (2005). Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic acids research*, 33(20), e179-e179.
- Chen, N. X., Kiattisunthorn, K., O'Neill, K. D., Chen, X., Moorthi, R. N., Gattone, V. H., ... & Moe, S. M. (2013). Decreased microRNA is involved in the vascular remodeling abnormalities in chronic kidney disease (CKD). *PloS one*, 8(5), e64558.
- Chu, H. T., Li, L., Jia, M., Diao, L. L., & Li, Z. B. (2020). Correlation between serum microRNA-136 levels and RAAS biochemical markers in patients with essential hypertension. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*, 24, 11761-11767.
- Dai, B., Wang, F., Nie, X., Du, H., Zhao, Y., Yin, Z., ... & Chen, C. (2020). The cell type-specific functions of miR-21 in cardiovascular diseases. *Frontiers in Genetics*, 11, 563166.
- Das, S., & Halushka, M. K. (2015). Extracellular vesicle microRNA transfer in cardiovascular disease. *Cardiovascular pathology*, 24(4), 199-206.
- de Lucia, C., Komici, K., Borghetti, G., Femminella, G. D., Bencivenga, L., Cannavo, A., ... & Rengo, G. (2017). microRNA in cardiovascular aging and age-related cardiovascular diseases. *Frontiers in medicine*, 4, 74.
- Dirol, H., Toyly, A., Ogus, A. C., Cilli, A., Ozbudak, O., Clark, O. A., & Ozdemir, T. (2022). Alterations in plasma miR-21, miR-590, miR-192 and miR-215 in idiopathic pulmonary fibrosis and their clinical importance. *Molecular Biology Reports*, 49(3), 2237-2244.
- Dzudie, A., Njume, E., Mfekeu, L. K., Djomou, A., Ba, H., Ndom, M. S., ... & Cameroon Cardiac Society and MMM Cameroon investigator group. (2021). May measurement month 2019: an analysis of blood pressure screening results from Cameroon. *European Heart Journal Supplements*, 23(Supplement_B), B33-B36.

- Esteller, M. (2011). Non-coding RNAs in human disease. *Nature reviews genetics*, 12(12), 861-874.
- Fagard, R. H., & Cornelissen, V. A. (2007). Incidence of cardiovascular events in white-coat, masked and sustained hypertension versus true normotension: a meta-analysis. *Journal of hypertension*, 25(11), 2193-2198.
- Food and Drug Administration, & National Institutes of Health. (2016). BEST (Biomarkers, Endpoints, and other tools) resource. *Silver Spring, MD: FDA-NIH Biomarker Working Group*.
- Forero, D. A., González-Giraldo, Y., Castro-Vega, L. J., & Barreto, G. E. (2019). qPCR-based methods for expression analysis of miRNAs. *Biotechniques*, 67(4), 192-199.
- Forrester, S. J., Booz, G. W., Sigmund, C. D., Coffman, T. M., Kawai, T., Rizzo, V., ... & Eguchi, S. (2018). Angiotensin II signal transduction: an update on mechanisms of physiology and pathophysiology. *Physiological reviews*, 98(3), 1627-1738.
- Fox, C. S., Pencina, M. J., Wilson, P. W., Paynter, N. P., Vasan, R. S., & D'Agostino Sr, R. B. (2008). Lifetime risk of cardiovascular disease among individuals with and without diabetes stratified by obesity status in the Framingham heart study. *Diabetes care*, 31(8), 1582-1584.
- Franklin, S. S., Larson, M. G., Khan, S. A., Wong, N. D., Leip, E. P., Kannel, W. B., & Levy, D. (2001). Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation*, 103(9), 1245-1249.
- Fuchs, F. D., & Whelton, P. K. (2020). High blood pressure and cardiovascular disease. *Hypertension*, 75(2), 285-292.
- Fujioka, Y., Otani, K., Okada, M., & Yamawaki, H. (2020). Plasma small extracellular vesicles in hypertensive rats impair reactivity of isolated blood vessels. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82(7), 897-902.
- Gadkar, V. J., & Filion, M. (2014). New developments in quantitative real-time polymerase chain reaction technology. *Current issues in molecular biology*, 16(1), 1-6.
- Ghafarian, F., Pashirzad, M., Khazaei, M., Rezayi, M., Hassanian, S. M., Ferns, G. A., & Avan, A. (2019). The clinical impact of exosomes in cardiovascular disorders: from basic science to clinical application. *Journal of Cellular Physiology*, 234(8), 12226-12236.
- González-López, P., Ares-Carral, C., López-Pastor, A. R., Infante-Menéndez, J., González Illaness, T., Vega de Ceniga, M., ... & Gómez-Hernández, A. (2022). Implication of miR-155-5p and miR-143-3p in the vascular insulin resistance and instability of human and experimental atherosclerotic plaque. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10253.
- Guzik, T. J., & Touyz, R. M. (2017). Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension. *Hypertension*, 70(4), 660-667.
- Haider, B. A., Baras, A. S., McCall, M. N., Hertel, J. A., Cornish, T. C., & Halushka, M. K. (2014). A critical evaluation of microRNA biomarkers in non-neoplastic disease. *PloS one*, 9(2), e89565.

Hamid, S., Rhaleb, I. A., Kassem, K. M., & Rhaleb, N. E. (2020). Role of kinins in hypertension and heart failure. *Pharmaceuticals*, 13(11), 347.

Henning, R. J. (2021). Cardiovascular exosomes and microRNAs in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Journal of cardiovascular translational research*, 14, 195-212.

Hromadnikova, I., Kotlabova, K., & Krofta, L. (2021). Association analysis in young and middle-aged mothers—relation between expression of cardiovascular disease associated micrnas and abnormal clinical findings. *Journal of Personalized Medicine*, 11(1), 39.

Huang, Y., Chen, J., Zhou, Y., Tang, S., Li, J., Yu, X., ... & Feng, Y. (2016). Circulating miR155 expression level is positive with blood pressure parameters: Potential markers of target-organ damage. *Clinical and Experimental Hypertension*, 38(3), 331-336.

Huang, Y., Tang, S., Ji-Yan, C., Huang, C., Li, J., Cai, A. P., & Feng, Y. Q. (2017). Circulating miR-92a expression level in patients with essential hypertension: a potential marker of atherosclerosis. *Journal of human hypertension*, 31(3), 200-205.

Janeway, T. C. (1913). A clinical study of hypertensive cardiovascular disease. *Archives of Internal Medicine*, 12(6), 755-798.

Jayaseelan, V. P., & Arumugam, P. (2020). Exosomal microRNAs as a promising theragnostic tool for essential hypertension. *Hypertension Research*, 43(1), 74-75.

Jeemon, P., Séverin, T., Amodeo, C., Balabanova, D., Campbell, N. R., Gaita, D., ... & Prabhakaran, D. (2021). World heart federation roadmap for hypertension—A 2021 update. *Global Heart*, 16(1).

Jia, Y., & Wei, Y. (2020). Modulators of MicroRNA function in the immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2357.

Jiménez-Avalos, J. A., Fernández-Macías, J. C., & González-Palomo, A. K. (2021). Circulating exosomal MicroRNAs: New non-invasive biomarkers of non-communicable disease. *Molecular Biology Reports*, 48, 961-967.

Jordan, J., Kurschat, C., & Reuter, H. (2018). Arterial hypertension: diagnosis and treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(33-34), 557.

Julius, S., Nesbitt, S. D., Egan, B. M., Weber, M. A., Michelson, E. L., Kaciroti, N., ... & Schork, M. A. (2006). Feasibility of treating prehypertension with an angiotensin-receptor blocker. *New England Journal of Medicine*, 354(16), 1685-1697.

Kaplan, N. M. (1998). Commentary on the sixth report of the Joint National Committee (JNC-6). *American journal of hypertension*, 11(1), 134-136.

Kara, S. P., Ozkan, G., Yilmaz, A., Bayrakçı, N., Güzel, S., & Geyik, E. (2021). MicroRNA 21 and microRNA 155 levels in resistant hypertension, and their relationships with aldosterone. *Renal Failure*, 43(1), 676-683.

Kario, K., Nomura, A., Harada, N., Okura, A., Nakagawa, K., Tanigawa, T., & Hida, E. (2021). Efficacy of a digital therapeutics system in the management of essential hypertension: the HERB-DH1 pivotal trial. *European heart journal*, 42(40), 4111-4122.

- Kondkar, A. A., & Abu-Amero, K. K. (2015). Utility of circulating microRNAs as clinical biomarkers for cardiovascular diseases. *BioMed research international*, 2015.
- Kontaraki, J. E., Marketou, M. E., Zacharis, E. A., Parthenakis, F. I., & Vardas, P. E. (2014). Differential expression of vascular smooth muscle-modulating microRNAs in human peripheral blood mononuclear cells: novel targets in essential hypertension. *Journal of human hypertension*, 28(8), 510-516.
- Kontaraki, J. E., Marketou, M. E., Zacharis, E. A., Parthenakis, F. I., & Vardas, P. E. (2014). MicroRNA-9 and microRNA-126 expression levels in patients with essential hypertension: potential markers of target-organ damage. *Journal of the American Society of Hypertension*, 8(6), 368-375.
- Kozera, B., & Rapacz, M. (2013). Reference genes in real-time PCR. *Journal of applied genetics*, 54, 391-406.
- Kućmierz, J., Frąk, W., Młynarska, E., Franczyk, B., & Rysz, J. (2021). Molecular interactions of arterial hypertension in its target organs. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9669.
- Kvist, S., & Mulvany, M. J. (2001). Reduced medication and normalization of vascular structure, but continued hypertension in renovascular patients after revascularization. *Cardiovascular research*, 52(1), 136-142.
- Kwon, S. H., Tang, H., Saad, A., Woollard, J. R., Lerman, A., Textor, S. C., & Lerman, L. O. (2016). Differential expression of microRNAs in urinary extracellular vesicles obtained from hypertensive patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 68(2), 331-332.
- La Salvia, S., Gunasekaran, P. M., Byrd, J. B., & Erdbrügger, U. (2020). Extracellular vesicles in essential hypertension: hidden messengers. *Current Hypertension Reports*, 22, 1-18.
- La Salvia, S., Musante, L., Lannigan, J., Gigliotti, J. C., Le, T. H., & Erdbrügger, U. (2020). T cell-derived extracellular vesicles are elevated in essential HTN. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 319(5), F868-F875.
- Lakhter, A. J., Pratt, R. E., Moore, R. E., Doucette, K. K., Maier, B. F., DiMeglio, L. A., & Sims, E. K. (2018). Beta cell extracellular vesicle miR-21-5p cargo is increased in response to inflammatory cytokines and serves as a biomarker of type 1 diabetes. *Diabetologia*, 61, 1124-1134.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5), 843-854.
- Lekka, E., & Hall, J. (2018). Noncoding RNA s in disease. *FEBS letters*, 592(17), 2884-2900.
- Li, S., Zhu, J., Zhang, W., Chen, Y., Zhang, K., Popescu, L. M., ... & Cai, J. (2011). Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection. *Circulation*, 124(2), 175-184.
- Li, X., Wei, Y., & Wang, Z. (2018). microRNA-21 and hypertension. *Hypertension Research*, 41(9), 649-661.

Ling, H., Guo, Z., Shi, Y., Zhang, L., & Song, C. (2020). Serum exosomal MicroRNA-21, MicroRNA-126, and PTEN are novel biomarkers for diagnosis of acute coronary syndrome. *Frontiers in physiology*, 11, 654.

Lip, G. Y., & Blann, A. D. (2000). Does hypertension confer a prothrombotic state? Virchow's triad revisited. *Circulation*, 101(3), 218-220.

Lopez, E. O., Ballard, B. D., & Jan, A. (2022). Cardiovascular disease. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Lowenstein, F. (1961). Blood-pressure in relation to age and sex in the tropics and subtropics: a review of the literature and an investigation in two tribes of Brazil Indians. *The Lancet*, 277(7173), 389-392.

Luther, K. M., Haar, L., McGuinness, M., Wang, Y., Lynch IV, T. L., Phan, A., ... & Jones, W. K. (2018). Exosomal miR-21a-5p mediates cardioprotection by mesenchymal stem cells. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 119, 125-137.

lv, C. Y., Ding, W. J., Wang, Y. L., Zhao, Z. Y., Li, J. H., Chen, Y., & lv, J. (2018). A PEG-based method for the isolation of urinary exosomes and its application in renal fibrosis diagnostics using cargo miR-29c and miR-21 analysis. *International urology and nephrology*, 50, 973-982.

Mahdavi, R., Ghorbani, S., Alipoor, B., Panahi, G., Khodabandehloo, H., Esfahani, E. N., ... & Meshkani, R. (2018). Decreased serum level of miR-155 is associated with obesity and its related metabolic traits. *Clinical Laboratory*, 64.

Mancia, G., De Backer, G., Dominiczak, A., Cifkova, R., Fagard, R., Germano, G., ... & Zamorano, J. L. (2007). 2007 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). *European heart journal*, 28(12), 1462-1536.

Marketou, M., Kontaraki, J., Papadakis, J., Kochiadakis, G., Vrentzos, G., Maragkoudakis, S., ... & Parthenakis, F. (2019). Platelet microRNAs in hypertensive patients with and without cardiovascular disease. *Journal of Human Hypertension*, 33(2), 149-156.

Marques, F. Z., Booth, S. A., & Charchar, F. J. (2015). The emerging role of non-coding RNA in essential hypertension and blood pressure regulation. *Journal of human hypertension*, 29(8), 459-467.

Messerli, F. H., Williams, B., & Ritz, E. (2007). Essential hypertension. *The Lancet*, 370(9587), 591-603.

Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L., ... & Tewari, M. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(30), 10513-10518.

Mu, D. N., & Luft, F. C. (2006). Direct renin inhibition with aliskiren in hypertension and target organ damage. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 1(2), 221-228.

Muñoz-Durango, N., Fuentes, C. A., Castillo, A. E., González-Gómez, L. M., Vecchiola, A., Fardella, C. E., & Kalergis, A. M. (2016). Role of the renin-angiotensin-

aldosterone system beyond blood pressure regulation: molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension. *International journal of molecular sciences*, 17(7), 797.

Nguyen, B. Y., Azam, T., & Wang, X. (2021). Cellular signaling cross-talk between different cardiac cell populations: an insight into the role of exosomes in the heart diseases and therapy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 320(4), H1213-H1234.

Ni, Y. Q., Lin, X., Zhan, J. K., & Liu, Y. S. (2020). Roles and functions of exosomal non-coding RNAs in vascular aging. *Aging and disease*, 11(1), 164.

Niu, M., Li, H., Li, X., Yan, X., Ma, A., Pan, X., & Zhu, X. (2021). Circulating Exosomal miRNAs as novel biomarkers perform superior diagnostic efficiency compared with plasma miRNAs for large-artery atherosclerosis stroke. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 791644.

Nouraei, N., & Mowla, S. J. (2015). miRNA therapeutics in cardiovascular diseases: promises and problems. *Frontiers in genetics*, 6, 232.

Oliver, W. J., Cohen, E. L., & Neel, J. V. (1975). Blood pressure, sodium intake, and sodium related hormones in the Yanomamo Indians, a "no-salt" culture. *Circulation*, 52(1), 146-151.

Olivieri, F., Spazzafumo, L., Santini, G., Lazzarini, R., Albertini, M. C., Rippo, M. R., ... & Procopio, A. D. (2012). Age-related differences in the expression of circulating microRNAs: miR-21 as a new circulating marker of inflammaging. *Mechanisms of ageing and development*, 133(11-12), 675-685.

Onodera, Y., Teramura, T., Takehara, T., Obora, K., Mori, T., & Fukuda, K. (2017). miR-155 induces ROS generation through downregulation of antioxidation-related genes in mesenchymal stem cells. *Aging cell*, 16(6), 1369-1380.

Osler, W. (1892). *The Principles and practice of medicine* c. 2. D. Appleton.

Pan, B. T., & Johnstone, R. M. (1983). Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*, 33(3), 967-978.

Pardell, H., Armario, P., & Hernández, R. (1998). Pathogenesis and epidemiology of arterial hypertension. *Drugs*, 56, 1-10.

Parthenakis, F., Marketou, M., Kontaraki, J., Patrianakos, A., Nakou, H., Touloupaki, M., ... & Vardas, P. (2017). Low Levels of Micro RNA-21 Are a Marker of Reduced Arterial Stiffness in Well-Controlled Hypertension. *The journal of clinical hypertension*, 19(3), 235-240.

Parthenakis, F. I., Marketou, M. E., Kontaraki, J. E., Maragoudakis, F., Maragoudakis, S., Nakou, H., ... & Vardas, P. E. (2016). Comparative microRNA profiling in relation to urinary albumin excretion in newly diagnosed hypertensive patients. *Journal of Human Hypertension*, 30(11), 685-689.

Perez-Hernandez, J., Olivares, D., Forner, M. J., Ortega, A., Solaz, E., Martinez, F., ... & Cortes, R. (2018). Urinary exosome miR-146a is a potential marker of albuminuria in essential hypertension. *Journal of Translational Medicine*, 16(1), 1-9.

Peters, L. J., Biessen, E. A., Hohl, M., Weber, C., Van der Vorst, E. P., & Santovito, D. (2020). Small things matter: relevance of microRNAs in cardiovascular disease. *Frontiers in physiology*, 11, 793.

Ren, Y., & Zhang, H. (2023). Emerging role of exosomes in vascular diseases. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1090909.

Pironti, G., Strachan, R. T., Abraham, D., Mon-Wei Yu, S., Chen, M., Chen, W., ... & Rockman, H. A. (2015). Circulating exosomes induced by cardiac pressure overload contain functional angiotensin II type 1 receptors. *Circulation*, 131(24), 2120-2130.

Roerecke, M., Tobe, S. W., Kaczorowski, J., Bacon, S. L., Vafaei, A., Hasan, O. S., ... & Rehm, J. (2018). Sex-specific associations between alcohol consumption and incidence of hypertension: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Journal of the American Heart Association*, 7(13), e008202.

Rossi, A., Dikareva, A., Bacon, S. L., & Daskalopoulou, S. S. (2012). The impact of physical activity on mortality in patients with high blood pressure: a systematic review. *Journal of hypertension*, 30(7), 1277-1288.

Santosh, B., Varshney, A., & Yadava, P. K. (2015). Non-coding RNAs: biological functions and applications. *Cell biochemistry and function*, 33(1), 14-22.

Sanz-Rubio, D., Martin-Burriel, I., Gil, A., Cubero, P., Forner, M., Khalyfa, A., & Marin, J. M. (2018). Stability of circulating exosomal miRNAs in healthy subjects. *Scientific reports*, 8(1), 10306.

Schmittgen, T. D., Jiang, J., Liu, Q., & Yang, L. (2004). A high-throughput method to monitor the expression of microRNA precursors. *Nucleic acids research*, 32(4), e43-e43.

Shirazi-Tehrani, E., Chamasemani, A., Firouzabadi, N., & Mousaei, M. (2022). ncRNAs and polyphenols: new therapeutic strategies for hypertension. *RNA biology*, 19(1), 575-587.

Silva, B. V., Sousa, C., Caldeira, D., Abreu, A., & Pinto, F. J. (2022). Management of arterial hypertension: Challenges and opportunities. *Clinical Cardiology*, 45(11), 1094.

Spitler, K. M., & Webb, R. C. (2014). Endoplasmic reticulum stress contributes to aortic stiffening via proapoptotic and fibrotic signaling mechanisms. *Hypertension*, 63(3), e40-e45.

Staessen, J. A., Wang, J., Bianchi, G., & Birkenhäger, W. H. (2003). Essential hypertension. *The Lancet*, 361(9369), 1629-1641.

Tacke, F., Spehlmann, M. E., Vucur, M., Benz, F., Luedde, M., Cardenas, D. V., ... & Luedde, T. (2019). MiR-155 predicts long-term mortality in critically ill patients younger than 65 years. *Mediators of Inflammation*, 2019.

Tan, P. P. S., Hall, D., Chilian, W. M., Chia, Y. C., Mohd Zain, S., Lim, H. M., ... & Pung, Y. F. (2021). Exosomal microRNAs in the development of essential hypertension and its potential as biomarkers. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 320(4), H1486-H1497.

Tousoulis, D. (2020). Arterial hypertension: New concepts in diagnosis and treatment?. *Hellenic journal of cardiology: HJC= Hellenike kardiologike epitheorese*, 61(3), 145-147.

Tsujimoto, T., Mori, T., Houri, K., Onodera, Y., Takehara, T., Shigi, K., ... & Fukuda, K. (2020). miR-155 inhibits mitophagy through suppression of BAG5, a partner protein of PINK1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 523(3), 707-712.

Turchinovich, A., Weiz, L., Langheinz, A., & Burwinkel, B. (2011). Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic acids research*, 39(16), 7223-7233.

Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, 9(6), 654-659.

Vasan, R. S., Sullivan, L. M., Wilson, P. W., Sempos, C. T., Sundström, J., Kannel, W. B., ... & D'agostino, R. B. (2005). Relative importance of borderline and elevated levels of coronary heart disease risk factors. *Annals of internal medicine*, 142(6), 393-402.

Victoria, B., Dhahbi, J. M., Nunez Lopez, Y. O., Spinel, L., Atamna, H., Spindler, S. R., & Masternak, M. M. (2015). Circulating micro RNA signature of genotype-by-age interactions in the long-lived A mes dwarf mouse. *Aging cell*, 14(6), 1055-1066.

Villarroya-Beltri, C., Gutiérrez-Vázquez, C., Sánchez-Cabo, F., Pérez-Hernández, D., Vázquez, J., Martín-Cofreces, N., ... & Sánchez-Madrid, F. (2013). Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nature communications*, 4(1), 2980.

Wang, B., Wang, Z. M., Ji, J. L., Gan, W., Zhang, A., Shi, H. J., ... & Liu, B. C. (2020). Macrophage-derived exosomal Mir-155 regulating cardiomyocyte pyroptosis and hypertrophy in uremic cardiomyopathy. *Basic to Translational Science*, 5(2), 148-166.

Wang, C., Zhang, C., Liu, L., Xi, A., Chen, B., Li, Y., & Du, J. (2017). Macrophage-derived mir-155-containing exosomes suppress fibroblast proliferation and promote fibroblast inflammation during cardiac injury. *Molecular Therapy*, 25(1), 192-204.

Wang, L., & Chen, H. (2021). Correlation between serum miR-122 and myocardial damage and ventricular function in patients with essential hypertension. *Journal of Thoracic Disease*, 13(8), 4999.

Wang, Y., Xie, Y., Zhang, A., Wang, M., Fang, Z., & Zhang, J. (2019). Exosomes: An emerging factor in atherosclerosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 115, 108951.

Wightman, B., Ha, I., & Ruvkun, G. (1993). Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75(5), 855-862.

Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., ... & Desormais, I. (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the

European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal*, 39(33), 3021-3104.

Wu, N., Ye, C., Zheng, F., Wan, G. W., Wu, L. L., & Chen, Q. MiR155-5p inhibits cell migration and oxidative stress in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats. 2020; 9 (3).

Xiao, J., Pan, Y., Li, X. H., Yang, X. Y., Feng, Y. L., Tan, H. H., ... & Yu, X. (2016). Cardiac progenitor cell-derived exosomes prevent cardiomyocytes apoptosis through exosomal miR-21 by targeting PDCD4. *Cell death & disease*, 7(6), e2277-e2277.

Yang, L. X., Liu, G., Zhu, G. F., Liu, H., Guo, R. W., Qi, F., & Zou, J. H. (2014). MicroRNA-155 inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 15(2), 109-116.

Yavuzer, H., Ali, C., Yeşilova, A., Cengiz, M., Yavuzer, S., & Yaldiran, A. L. (2017). Beyaz Önlük Hipertansiyonu ve Esansiyel Hipertansiyonda MİR-125a ve MİR-155 Düzeylerin Araştırılması.

Yildirim, S. S., Akman, D., Catalucci, D., & Turan, B. (2013). Relationship between downregulation of miRNAs and increase of oxidative stress in the development of diabetic cardiac dysfunction: junctin as a target protein of miR-1. *Cell biochemistry and biophysics*, 67, 1397-1408.

Yücel, U. D. H. (2017). Dirençli Hipertansiyon. *Klinik Tıp Bilimleri*, 5(5), 35-39.

Zamani, P., Fereydouni, N., Butler, A. E., Navashenaq, J. G., & Sahebkar, A. (2019). The therapeutic and diagnostic role of exosomes in cardiovascular diseases. *Trends in cardiovascular medicine*, 29(6), 313-323.

Zhang, J. R., & Sun, H. J. (2021). MiRNAs, lncRNAs, and circular RNAs as mediators in hypertension-related vascular smooth muscle cell dysfunction. *Hypertension Research*, 44(2), 129-146.

Zhang, T. R., & Huang, W. Q. (2021). Angiogenic exosome-derived microRNAs: Emerging roles in cardiovascular disease. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 1-17.

Zhang, X., Wang, X., Wu, J., Peng, J., Deng, X., Shen, Y., ... & Zou, Y. (2018). The diagnostic values of circulating miRNAs for hypertension and bioinformatics analysis. *Bioscience Reports*, 38(4), BSR20180525.

Zhang, Z., Chen, H., Zhou, L., Li, C., Lu, G., & Wang, L. (2022). Macrophage-derived exosomal miRNA-155 promotes tubular injury in ischemia-induced acute kidney injury. *International Journal of Molecular Medicine*, 50(3), 1-13.

Zheng, B., Yin, W. N., Suzuki, T., Zhang, X. H., Zhang, Y., Song, L. L., ... & Wen, J. K. (2017). Exosome-mediated miR-155 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells induces endothelial injury and promotes atherosclerosis. *Molecular Therapy*, 25(6), 1279-1294.

Zou, X., Wang, J., Chen, C., Tan, X., Huang, Y., Jose, P. A., ... & Zeng, C. (2020). Secreted monocyte miR-27a, via mesenteric arterial mas receptor-eNOS pathway, causes hypertension. *American journal of hypertension*, 33(1), 31-42.

EKLER

Ek-1

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın katılımcı

Siz aşağıdaki bilgileri verilen bir araştırma projesine davet edilmektesiniz.

Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (TRAKYA ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** Esansiyel Hipertansiyon Etiyolojisinde Eksozomal miRNA Biyobelirteç Potansiyeli ve Ekspresyon Analizi
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Sebebi açıklanamayan yüksek tansiyonda eksozomal miRNA isimli küçük moleküllerin ifade düzeylerinin tanı aracı olarak incelenmesi
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
- **Araştırmanın amacı:** Esansiyel hipertansiyon toplumda oldukça sık görülen bir hastalıktır. Bu hastalık için erken tanı koymak çok önemlidir. Günümüzde kullanılan tanı yöntemleri karmaşık ve invazivdir. Bu sebeple literatürde kardiyovasküler sistem ile ilişkilendirilmiş olan ve esansiyel hipertansiyon hastalığı için tanı aracı olabileceği potansiyeli taşıyan eksozomal miRNA'ların biyobelirteç potansiyellerinin analiz edilmesi hedeflenmektedir. Böylece güvenilir, erişilebilir ve ekonomik bir tanı yöntemi tanımlayarak bireylere kolaylıkla tanı konmasının yanı sıra ileride bu hastalığı geliştirme potansiyeli bulunan bireyleri de tespit ederek hastalığın gelişmeden önlenmesi amaçlanmaktadır.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırma, klinik ve laboratuvar verilerinin ileriye dönük araştırılmasına yönelik bir çalışmadır.
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Mayıs 2023 – 12 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 50
- **Araştırma sırasında gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Gönüllülerden hastalık tanıları ile ilgili laboratuvar ve klinik bilgilerinin bilimsel çalışma amacı ile (hasta ismi belirtmeksizin) kullanımı için izin alınacaktır. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'na başvuran Esansiyel Hipertansiyon tanısını yeni

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu (TÜ_BAEK)
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
18 Ocak 2022, v2.0

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

almış olup henüz tedaviye başlanmamış hastalardan ve kontrol grubuna dahil edilecek sağlıklı bireylerden RNA-later solüsyonlu tüplere periferik venöz kan alınacaktır. Real Time PCR'da gen ekspresyonları incelenecektir. Son olarak uygun analiz programı kullanılarak ekspresyon verileri elde edilecektir.

- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Katılımcılar 18 yaş ve üzeri olacağından Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu bizzat katılımcıya okutulacak ve onamı alındığı takdirde araştırmaya dahil edilecektir.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Doğrudan gönüllü için beklenen bir yarar bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu okuyarak çalışmaya katılıp katılmayacağına hür iradesi ile karar vermek.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Gönüllülerin maruz kalabilecekleri herhangi bir risk veya rahatsızlık bulunmamaktadır.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Kişisel verilerin korunması kanunu dikkate alınarak çalışmaya dahil edilen gönüllülerin kişisel bilgileri, çalışma başlangıcında her bir gönüllüye atanacak protokol numarası ile isim belirtmeksizin kodlanacaktır. Tüm kişisel bilgiler ve çalışmadan elde edilecek veriler, şifre korumalı bilgisayarda saklanacaktır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Gönüllünün, Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu okuduktan sonra çalışmaya katılmak istemediğini beyan etmesi durumunda araştırmaya katılımı sona erdirilecektir.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Gönüllülerin özel olarak talebi olmadığı takdirde araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilmeyecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı.
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyaller kullanılarak eksozomal miRNA ekspresyon analizi yapılacaktır.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum.

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni okudum. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

• **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....
.....

Tarih:

• **Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)**

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....
.....

Tarih:

• **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

Ek-2

Etik Kurul Onay Formu

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI GİRİŞİMSSEL OLMAYAN BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye						
ARASTIRMA BAŞVURUSU/ ONAY BAŞVURUSU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOBİAEK 2023/213				
	PROTOKOL ADI	Esansiyel Hipertansiyon Etiyolojisinde Eksozomal miRNA Biyobelirteç Potansiyeli ve Ekspresyon Analizi				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI / ADI	Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal		Çok Merkez Uluslararası		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:99/04	Tarih:22.05.2023				
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sinem YALÇINTEPE'nin sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi İlike KIZILYAR'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllü ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcutun oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOBİAEK Yönergesi					
ÜYELER						
Unvan/Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Gulsüm ONAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	E	E H	E H	Mazere'tli
Prof. Dr. Mehmet Erdal VARDAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan UMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Semaz TOPALOĞLU Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sezgi SARIKAYA SOLAK Üye	Deri ve Zührevi Hastalıklar	T.Ü.T.F. Deri ve Zührevi Hastalıklar A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Galip EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER KÖKENLİ Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	Mazere'tli
Dr. Öğr. Üyesi Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Doğan ALBAYRAK Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	Mazere'tli
Doç. Dr. Burhan Can ÇANAKÇI Üye	Endokrin	T.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E	E H	E H	Mazere'tli
Doç. Dr. Hilal KEKLİCEK Üye	Protez-Ortez ve Biyomekanik	T.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	E H	E H	
Avukat Emine NÜRLÜ Üye		T.O. Rektörlüğü	K	E H	E H	
Emekli Öğretim Sinan SEÇKİN Üye	Emekli Öğretim	Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

İlke KIZILYAR İlköğretim ve ortaöğretimini Tekirdağ'ın Muratlı ilçesinde tamamladı. 2017 yılında Tekirdağ Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2021 yılında Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Daha sonra 2022 yılının Şubat ayında yatay geçiş yaparak Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam etti.