

BÖLÜM 8

miRNA'LARIN HİPERTANSİYON GELİŞİMİNDEKİ ROLÜ

Egemen AKGÜN¹

GİRİŞ

Arteriyel kan basıncının 140/90 mmHg'den daha yüksek olması olarak tanımlanan hipertansiyon, eğer tedavi edilmezse felç, miyokardiyal enfarktüs, vasküler ve kronik böbrek hastalıkları gibi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilen genel bir halk sağlığı problemidir. 2019 yılı verilerine göre dünya genelinde, 30-79 yaşları arası yetişkin popülasyonundaki hipertansiyonun prevalansı, kadınlarda %32 iken erkeklerde %34'tür. Bununla birlikte 1990 yılından 2019 yılına kadarki süreçte hipertansiyonlu birey sayısı yaklaşık iki katına çıkmıştır (1).

Hipertansiyon oldukça kompleks bir hastalık olup ortaya çıkışında hem genetik hem de çevresel faktörler rol oynamaktadır. İkiz çalışmaları sayesinde bireyler arasında gözlenen kan basıncı farklılıklarının sebebi olarak genetik faktörlerin katkısının oldukça büyük olduğu bilinmektedir (2).

Andrew Fire ve Craig Mello, RNA sessizleştirme (RNA interferans, RNAi) olarak adlandırılan bir mekanizma ile çift zincirli bir RNA molekülünün gen aktivitesini baskıladığını keşfettileri için 2006 yılında "Nobel Ödülü" ile ödüllendirilmişlerdir. RNA sessizleştirme, uzun bir çift zincirli RNA molekülünün üretilmesiyle başlayan, dizi spesifik bir mekanizmadır. Bu mekanizmada hedef genin ekspresyonunu baskılamak için ya üretilmiş mRNA molekülü kararsız hale getirilir, parçalanır ya da translasyonu baskılanır (3).

RNA sessizleştirme işleminde görev alan ve protein kodlamayan küçük RNA (ncRNA) molekülleri üç ana grupta toplanabilir. İlk grubu oluşturan mikro RNA'lar (miRNA), ortalama 22 nükleotit uzunluğunda olup molekül içi baz eşleşmelerinden dolayı saç tokası (hairpin) şeklindeki çift zincirli bir primer (öncül) transkriptten (pri-miRNA) üretilir. Bu transkript RNase III benzeri iki enzim (Dicer ve Drosha) tarafından işlenerek olgun miRNA haline getirilir. siRNA'lar, uzun (70 – ≤ 100 nt) çift zincirli RNA moleküllerinin Dicer enzimi ile işlenerek oluşturulurken tek zincirli RNA öncüllerinden sentezlenen piRNA'lar (22-30 nt)

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD., egemen.akgun@giresun.edu.tr

ise miRNA ve siRNA'dan farklı olarak "Dicer bağımsız" bir yolla üretilirler. miRNA'lar endojen genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumlu iken, siRNA'lar protein kodlayan genler, transpozon sessizleştirilmesi ve eksojen nükleik asitlerin (virüs vb.) parçalanması gibi görevler üstlenirler. Hayvan hücrelerindeki piRNA'ların ana görevi ise germline hücrelerinde mobil genetik elementlerin transpozisyonunu önlemektir (4). siRNA ve miRNA arasındaki en büyük fark, siRNA sadece belirli bir hedef mRNA'nın ekspresyonunu inhibe ederken bir miRNA çok sayıda farklı mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebilir (5).

miRNA ekspresyonundaki düzensizlikler, hipertansiyon da dahil olmak üzere çok sayıda kardiyovasküler hastalık ile ilişkilendirilmiştir (6). Ayrıca miRNA'lar; kan dolaşımındaki veziküller, eksozomlar ve mikro veziküller yardımı ile vücut sıvılarında (kan, serum, idrar, anne sütü) taşınabilirler ve HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) parçacıkları ile çeşitli kompleksler oluşturarak RNase gibi enzimler tarafından parçalanmaktan korunabilirler (7, 8). Bundan dolayı da hastalıkların prognozunda potansiyel birer biyobelirteç olarak nitelendirilmektedirler (9).

miRNA'LAR

İlk RNA sessizleştirme mekanizması petunya bitkisi üzerinde yapılan çalışmalarda, kimerik bir genin beklenmedik bir şekilde endojen bir geni sekans spesifik olarak susturmasıyla ortaya çıkarılmıştır (10). İlk miRNA yolu ise bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) üzerinde yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. Lin-4 lokusunu klonlayan Lee ve arkadaşları, lin-4 geninin olası açık okuma çerçevelerini karşılaştırdıklarında bu genin herhangi bir protein kodlamasına rağmen 22 ve 62 nükleotit uzunluğunda iki küçük RNA transkripte ettiğini bulmuşlardır. Bu küçük RNA'ların lin-14 (postembriyonik gelişimden sorumlu bir gen) mRNA'sının 3' UTR (proteine çevrilmeyen bölge) bölgesindeki tekrar sekanslı bir dizile tamamlayıcı olduğu görülmüştür (11). Reinhart ve arkadaşları tarafından 2000 yılında, *C. elegans*'ta let-7 adı verilen yeni bir küçük RNA keşfedilmiş ve nematodun geç larva döneminden erişkinliğe geçebilmesi için 21 nt uzunluğundaki bu RNA'ya ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir (12). miRNA yolunun türler arasında korunmuş bir mekanizmayla işlediği fikri ise Pasquinelli ve ark. tarafından yine 2000 yılında yapılan bir çalışmaya dayanmaktadır. Araştırmacılar, let-7'nin *C. elegans*'tan insana kadar geniş çeşitlilikte ve yüksek yapısal organizmalar arasında yüksek oranda korunmuş olduğunu göstermişlerdir (13).

miRNA ÜRETİMİ

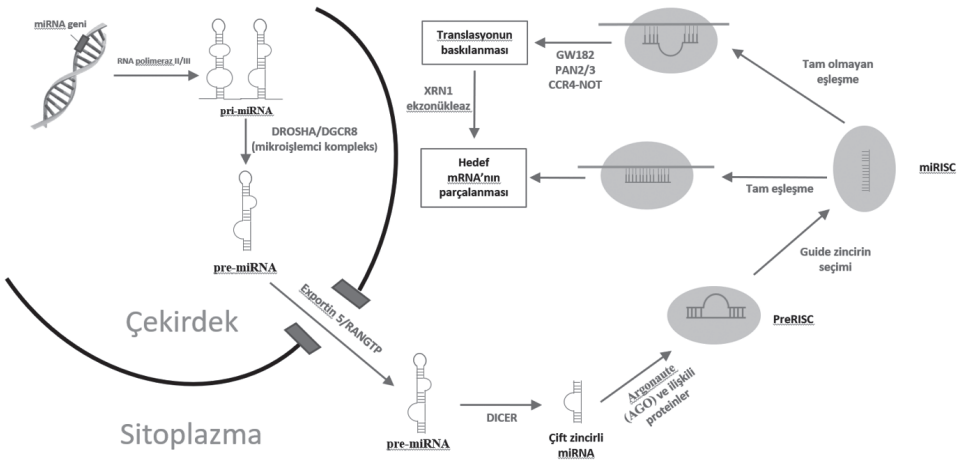
miRNA üretimi, kononikal/klasik ve kononikal olmayan olarak adlandırılan iki yolla gerçekleştirilir (14, 15).

Kononikal yolaktaki ilk evre miRNA genlerinden RNA polimeraz II/III yardımı ile uzun bir primer transkriptin sentezlenmesidir. Sentezi tamamlandığında 5' Cap ve 3' poli A kuyruğuna sahip olan bu pri-miRNA transkripti 1000 nükleotitten daha uzundur ve molekül içi Watson-Crick tamamlayıcı baz eşleşmelerinden dolayı çift zincirli bir saç tokası (hair-pin) yapısı içerir (16). miRNA sentezindeki ikinci evre pri-miRNA'nın mikroişlemci kompleks (microprocessor complex) tarafından kesilerek pre-miRNA'ya dönüştürülmesidir. Mikroişlemci kompleksinin iki ana bileşeni vardır. Bunlar, bir ribonükleaz III olan Drosha ve Drosha'nın ko-faktörü olarak RNA'ya bağlanan DGCR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region 8) proteinleri olup her iki protein de çekirdekte yer alır (17). DGCR8, pri-miRNA'nın GGAC dizilerindeki N⁶ - metiladenozin ve diğer bazı özel motifleri tanıyıp bağlanırken Drosha ise saç tokası yapısının tabanından pri-miRNA'yı keser (18). Bu işlem sonucunda yaklaşık 60-70 nükleotit uzunluğunda ve saç tokası şeklindeki pre-miRNA üretilmiş olur. Böylece çekirdekteki işleme süreci sona eren pre-miRNA, 3' ucunda bulunan ve diğer bazlarla bağlantı yapmayan 2 nükleotitlik çıkıntısı (overhang) aracılığıyla exportin-5 (Xpo5)/ RanGTP kompleksine tutunur. Ardından bu üçlü yapı çekirdek por kompleksi vasıtası ile çekirdekten sitoplazmaya aktarılır (19, 20). Sitoplazmadaki pre-miRNA'nın uç kısım (terminal) ilmeği, bir RNase III olan Dicer endonükleazı tarafından kesilerek ortalama 21 nükleotit uzunluğundaki olgun çift zincirli miRNA molekülü meydana getirilir. Olgun miRNA çift iplikli halde Argonaute (AGO) proteini ve ilişkili proteinlerle birleşerek preRISC kompleksini oluşturur. Ardından bu iki zincirden biri (guide strand) seçilerek kompleks içindeki varlığı sürdürülürken diğer iplik (passenger strand) ise Ago proteini tarafından parçalanarak yok edilir. Böylece hedef mRNA molekülü ile komplementer tek zincirli bir diziye sahip olan ve miRISC olarak adlandırılan bu kompleks, hedefindeki mRNA ile birleşebilir (21, 22). Bunun sonucunda da hedef mRNA molekülü parçalanarak ya da kararsız hale getirilerek translasyonel baskılanma sağlanmış olur (Şekil 1).

Kononikal olmayan yollar ise genel olarak Drosha/DGCR8 bağımsız ve Dicer bağımsız yollar olarak ikiye ayrılırlar (15). Drosha bağımsız yolağa örnek olarak 7 metilguanosa (m⁷G) başlıklı pre-miRNA'lar ve mirtronlar örnek olarak verilebilir. m⁷G başlıklı pre-miRNA'lar, Drosha/DGCR8 tarafından işlenilmeye ihtiyaç duymadan Exportin 1 tarafından çekirdekten sitoplazmaya aktarılır (23). Mirtron (kodlayan genlerin intronlarının kalıp olarak kullanılmasıyla üretilen pri-miRNA'lar) örneğinde, üretilmiş pri-miRNA molekülünün çekirdekteki işleme evresinde Drosha/DGCR8 yerine bir splayozom kompleksi görev alır. Splaying işleminden sonra Xpo5/RanGTP tarafından çekirdekten sitoplazmaya aktarılan pre-miRNA'lar, burada DICER ve AGO proteinleri ile işlenerek olgun son

hallerini alırlar (24, 25). Dicer bağımsız mekanizmada ise shRNA (short hairpin RNA) şeklinde üretilmiş öncül miRNA'lar, Drosha/DGCR8 kompleksi tarafından işlenerek Xpo5/RanGTP tarafından sitoplazmaya geçirilir. Burada DICER proteini kullanılmadan sadece AGO-2 (Argonaute-2) tarafından kesilerek miRNA'nın olgunlaşması sağlanır (26, 27).

Kononikal ve kononikal olmayan yolların tümü miRISC oluşumuyla son bulur. Çoğu durumda miRISC, büyük olasılıkla eIF4F kompleksine müdahale ederek translasyonun inhibisyonunu indüklemek için hedef mRNA'lara bağlanır. Ardından, GW182 ailesi proteinleri, poli(A)-deadenilazlar PAN2/3 ve CCR4-NOT proteinleri Argonaute'ye bağlanır. PAN2/3 deadenilasyonu başlatırken, CCR4-NOT kompleksi işlemi tamamlayarak, hedef mRNA üzerindeki m⁷G başlığının çıkarılma işlemi tamamlanmış olur. Başlıksız mRNA daha sonra bir ekso-ribonükleaz olan XRN1 aracılığıyla 5' -3' degradasyona uğrayabilir (15, 28-30).



Şekil 1. miRNA üretimi

miRNA'LARIN HEDEFLEME ÖZGÜLLÜĞÜ

miRNA'lar, hedeflerindeki mRNA'yı birincil olarak sahip oldukları çekirdek dizisini (seed sequence) kullanarak seçerler (31, 32). Çekirdek dizisi, bir miRNA'nın 5' ucundan 3' ucuna doğru devam eden 2-8 nükleotitlik bir bölgedir. Bu diziler, miRNA'nın hedeflediği mRNA molekülünün çeşitli bölgelerindeki dizilerle tam

komplementerlik gösterir. miRNA'lar hedefledikleri mRNA molekülerinin çoğunlukla 3' UTR bölgesiyle bağlantı kurarlar. Bununla birlikte miRNA'ların hedef mRNA'nın 5' UTR, promotor ya da kodlayan gen bölgeleriyle de bağlantı kurabildiği bilinmektedirler (33-35).

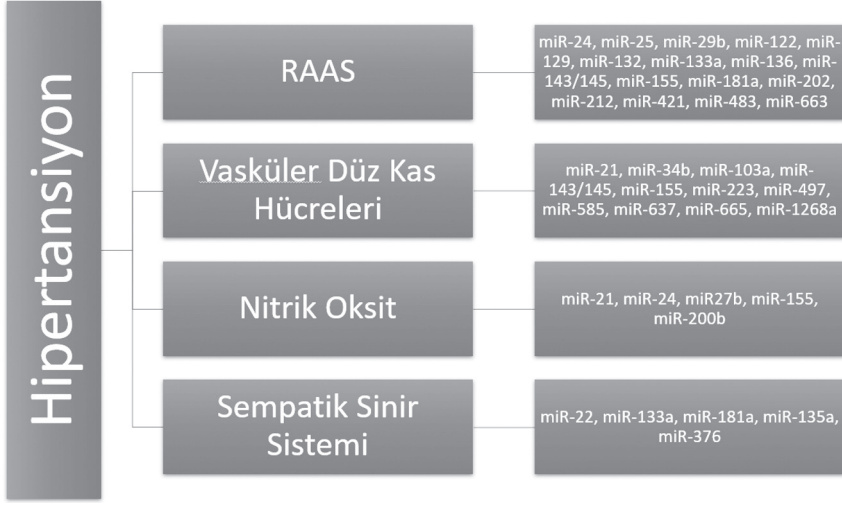
İnsan genomundaki protein kodlayan genlerin %60'undan fazlası en az bir tane korunmuş miRNA bağlanma bölgesi içermektedir. Ancak çok sayıda korunmamış bölgenin de mevcut olduğu göz önüne alındığında, protein kodlayan genlerin çoğu miRNA'ların kontrolü altında olabilir (36). Şu ana kadar (Ocak 2022) insan genomunun 1917 öncül ve 2654 olgun (miRBase v.22.1) miRNA kodladığı bilinmektedir (37).

miRNA'LAR VE HİPERTANSİYON

Hipertansiyonun patofizyolojisinde pek çok faktör rol oynar. Bu faktörler arasında değişmiş renin-anjiyotensin-aldosteron (RAA) sistem aktivitesi, vasküler düz kas disfonksiyonu, artan oksidatif stres ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu büyük önem taşır (38, 39) (Şekil 2).

RENİN ANJİYOTENSİN ALDESTERON SİSTEMİ (RAAS)

Bir hormon sistemi olan RAAS, plazma sodyum konsantrasyonu ve arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde kullanılan en temel yollardan biri olup birçok enzim, peptit ve reseptörden meydana gelir. RAAS kaskadı, kan basıncının düşmesine bir tepki olarak böbrek jukstaglomeruler hücrelerinden dolaşıma renin salınması ile başlar. Ana olarak karaciğerde üretilen anjiyotensinojen, renin tarafından anjiyotensin I'e (AngI) metabolize edilir. Oluşan Ang I ise çoğunlukla akciğer vasküler endoelyal hücrelerin yüzeyinde bulunan ve membrana bağlı bir metalloproteaz olan anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin II'ye (Ang II) dönüştürülür (40). Ang II ise böbrek, adrenal korteks, arteriyoller ve beyinde anjiyotensin II tip 1 ve anjiyotensin II tip 2 reseptörlerine bağlanır (41). Ang II böylece böbreklerden sodyum geri emilimini artırırken sistemik arteriyollerde vazokonstriksiyona neden olur. Aynı zamanda beyindeki susama merkezini aktive eder ve antidiüretik hormon salınımını uyarır. Bunların yanında Ang II, adrenal korteksten aldosteron salınımını da aktive eder (42).



Şekil 2. Hipertansiyonla ilişkili miRNA'lar

miR-181a ve miR-663'ün insan böbrek dokusunda Renin mRNA'sının 3' UTR bölgesine bağlanarak renin ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenlediği bilinmektedir (43). Renin geninin ekspresyonunu düzenleyen bir başka mikro RNA ise miR-25'tir. Li ve arkadaşları, normal farelerde miR-25 inhibisyonunun artan renin protein düzeyleriyle ilişkili olduğunu ve bunun da yükselen kan basıncına neden olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada bu bulguları destekleyecek şekilde hipertansif bireylerin serum örneklerinde miR-25 düzeylerinin düşük, renin düzeylerinin ise yüksek olduğu bulunmuştur (44).

İnsan adrenal dokusunda yapılan bir çalışma miR-24'ün CYP11B1 ve CYP11B2 mRNA'larındaki aynı tanıma dizilerine bağlanarak bu genlerin ekspresyonunu ve buna bağlı olarak da aldosteron ve kortizol üretimini düzenlediğini göstermiştir (45).

Farelerde yapılan bir çalışmada böbrek içi miR-133a enjeksiyonunu takiben renal korteksteki anjiyotensinojen (AGT) düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada, miR-133a ekspresyonu tümör nekroz faktör α (TNF α) tarafından indüklenmiş ve TNF α üretiminin düşmesiyle renal AGT seviyeleri yükselmiştir (46). miR-133a'nın aynı zamanda Prorenin reseptörünün (PRR) 3'UTR bölgesini de hedeflediği bilinmektedir. Hipertansif bireylerde PRR düzeylerinin yüksek olmasıyla uyumlu olarak Ang II ile indüklenmiş HUVEC hücrelerinde miR-133a ekspresyonu azaldığında PRR sentezide artmaktadır (47).

Yetişkin kardiyak fibroblastları ve HEK93N hücrelerinde yapılan bir çalışmada, hücreler Ang II ile indüklendiğinde miR-29b, miR-129, miR-132 ve miR-

212'nin aşırı ifade edildiği ve bu miRNA'ların, Gαq11 ve Map kinaz (Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 - ERK1/2) sinyal yollarının aktivasyonu sağlayarak AT1R (anjyotensinojen II tip 1 reseptörü) üretimini aşırı şekilde artırdıkları belirtilmiştir (48). Eskildsen ve arkadaşları, Ang II ile indüklenmiş hipertansif ratların kalp, aort duvarı ve böbrek dokusunda miR-132 ve miR-212'nin aşırı ifade edildiğini, AT1R blokörü kullanan hipertansif bireylerden elde edilmiş internal torasik arter hücrelerindeki miR-132 ve miR-212 ekspresyonunun ise azaldığını gözlemlemişlerdir (49). miR-132'nin RAAS sistemi üzerinde oynadığı rolü gösteren bir başka çalışmada ise miR132'nin inaktivasyonunun PGE2 (prostaglandin-E2) ve COX-2 (cyclooxygenase-2) aracılığı ile plazmadaki renin düzeylerini yükselttiği rapor edilmiştir (50).

miR-483, RAAS sisteminde görev alan *AGT*, *ACE1*, *ACE2* ve *AT2R* (Anjiyotensinojen II tip 2 reseptörü) genlerinin ekspresyonlarını düzenlemektedir. Kemp ve arkadaşları vasküler düz kas hücrelerini (VSMC) Ang II ile indüklediklerinde, hücrelerde miR-483 ekspresyon düzeyleri düşerken *AGT*, *ACE1*, *ACE2* ve *AT2R* protein düzeyleri ise yükselmiştir. Bundan dolayı araştırmacılar miR483'ün bir prognostik belirteç ve terapötik hedef olabileceğini öne sürmüşlerdir (51).

Kültüre edilmiş endotelial hücrelerdeki shear stress (kan akış gerilim) durumunda miR-143/145'in AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPKα2) aracılığı ile düzeylerinin artması *ACE1* ekspresyonunu düşürmektedir (52). Hu ve arkadaşları, VSMC hücrelerinde ERK1/2 yolağının aktivitesi ile miR-145 ekspresyonunun baskılandığını ve *ACE1* düzeylerinin artarak kan basıncını yükseltebileceğini belirtmişlerdir (53).

İnsan kardiyak miyofibroblast hücrelerinde yapılan bir çalışmada, *ACE2* transkriptinin 3' UTR bölgesini hedefleyen miR-421 ekspresyonunun yükselmesi ile *ACE2* ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. (54).

Song ve arkadaşları, Ang II ile indüklenmiş rat aort fibroblastlarındaki miR-122 inhibisyonunun *SIRT6* (sirtuin 6)-*ELA* (elabela)-*ACE2* sinyal yolağındaki proteinlerin ekspresyonunu artırarak hücreleri otofaji kaybı, migrasyon, apoptozis ve oksidatif stresi inhibe ettiğini belirtmişlerdir (55).

İnsan akciğer fibroblastları üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise miR-155'in *AT1R* mRNA'sının 3'UTR bölgesini hedeflediği ve bu hücrelere miR155 transfeksiyonu sonrasında *AT1R* protein düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü gösterilmiştir. Bunu destekleyecek şekilde bu hücrelere miR-155 inhibitörü verildiğinde *AT1R* düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir (56). Ayrıca, Ang II ile indüklenmiş fare VSMC hücrelerinde yapılan bir çalışma ise azalan miR-155 ekspresyonu ile birlikte *AT1R* ekspresyonunda artış gözlenmiş, bu

artışın ise VSMC hücrelerinin proliferasyonunu indüklediği belirtilmiştir (57). Akciğer fibroblastları ve fareler üzerinde yapılan çalışmaların dışında, miR155'in hipertansiyonla ilişkisi klinik bir çalışmayla da gösterilmiştir. Araştırmacılar, AT1R'nin 3' UTR bölgesindeki sessiz bir polimorfizme sahip hipertansif bireylerde miR-155'in polimorfik bölgeye bağlanamaması nedeniyle AT1R protein sentezinin artarak hipertansiyona neden olabileceğini öne sürmüşlerdir (58).

Son yıllarda yapılan iki ayrı klinik çalışma ile miR-136 ve miR-202'nin RAAS üzerinden kan basıncının düzenlenmesinde etkili olabileceği öne sürülmüştür. İlk çalışmada hipertansif bireylerin serum örneklerinde miR-136 konsantrasyonunun düştüğü ve buna karşın hastaların ACE aktivitesi, aldosteron, renin ve Ang II gibi RAAS belirteçlerinin konsantrasyonunun yükseldiği gözlenmiştir (59). Yine hipertansif bireylerde yapılan ve miR-202 ile hipertansiyon arasındaki ilişkiyi araştıran ikinci çalışmada, miR-202 kan değerlerinin hipertansif bireylerde aşırı derecede arttığı ve bu artışın miR-202'nin hedeflediği ST2 reseptörü (interleukin 1 receptor like 1) aracılıyla hipertansiyona yol açabileceği belirtilmiştir (60).

VASKÜLER DÜZ KAS HÜCRELERİ (VSMC)

Vasküler düz kas hücreleri kan damarlarının önemli bir bileşenidir. Bu hücrelerin farklılaşması, çoğalması ya da migrasyonlarındaki bozukluklar hipertansiyonun gelişimine katkıda bulunur (61). VSMC üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde miR143 ve miR-145'in bu hücrelerin doğru bir şekilde farklılaşarak uygun bir fenotipe dönüşmelerinde elzem oldukları bilinmektedir (62-64). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışma, miR-155'in hedef olarak p27 mRNA'sını seçtiğini göstermiştir. Bir siklin bağımlı kinaz (Cdk) inhibitörü olan p27, hücrelerin G1 fazından S fazına geçmesini engeller. miR-155, p27 ekspresyonunu baskılayarak VSMC hücrelerinin aşırı çoğalmasını sağladığından hipertansiyonun gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (65). Benzer şekilde, hipoksi ile proliferasyonu indüklenen insan pulmoner arter düz kas hücrelerinde miR-497, miR-1268a ve miR-665 sentezinin artarak sırasıyla *p15*, *p16*, ve *p21* genlerinin (cdk inhibitörleri) translasyonu azaltılmaktadır (66).

Pulmoner arteriyel hipertansiyonlu (PAH) bireylerin pulmoner arter düz kas hücrelerinde yapılan bir çalışma, miR-223 ekspresyonunun düştüğü ve bu düşüşün PARP-1'in poli (ADP-riboz) polimeraz 1 aşırı üretimiyle sonuçlandığını göstermiştir. Artan PARP-1 üretimi ise pulmoner arteriyel düz kas hücrelerinin aşırı proliferasyonuna ve apoptozise dirençli hale gelmelerine neden olmaktadır (67). Bir başka çalışmada, insan PBMC (peripheral blood mononuclear cell) hücrelerinde benzer bir mekanizmayla PARP-1' i hedefleyen iki ayrı miRNA'nın

(miR-103a-2-5p ve miR-585-5p) sistemik hipertansiyonda etkili olabileceği bildirilmiştir (68).

Sang ve arkadaşları, lusiferaz raportör deneyi ile Cdk6'nın (hücrenin G1 evresinden sorumlu ana siklin bağımlı kinaz) 3' UTR bölgesinde miR-637 için bir bağlanma bölgesi tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, kronik obstruktif akciğer hastalığı olan hipertansiyonlu bireylerin VSMC hücrelerinde hipoksiyle birlikte artan cdk6 üretiminin miR-637 muamelesinden sonra hızla düştüğü bildirilmiştir. Araştırmacılar, miR-637'nin Cdk6 sentezindeki düzenleyici rolünden dolayı KOAH'ın eşlik ettiği pulmoner hipertansiyonlu bireylerde bu mikro RNA'nın terapötik bir hedef olabileceğini önermişlerdir (69). Benzer şekilde miR-34b'nin de cdk6'yı hedeflediği gösterilmiştir. Kendiliğinden hipertansif ratlar (spontaneously hypertensive rats - SHR) üzerinde yapılan bir çalışmada, VSMC hücrelerindeki miR-34b ekspresyon düzeylerinin artması ile cdk6 üretiminin azaldığı bulunmuştur (70).

VSMC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunda görev alan bir diğer mikro RNA ise miR-21'dir. miR-21'in hedeflediği mRNA sayısı oldukça fazla olmakla birlikte VSMC hücrelerinin farklılaşması ve fenotipik regülasyonunda da görev almaktadır (71). Bunu destekler şekilde dolaşım sistemi ve renal korteksteki miR-21 düzeyleri, sağlıklı bireylerde hipertansif bireylere göre çok daha düşüktür (43, 72).

NİTRİK OKSİT (NO)

Kan basıncının düzenlenmesinde nitrik oksit bir vazodilatör olarak önemli katkılarda bulunur. Nitrik oksit sentezinden sorumlu endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi, miR-155 için bağlanma bölgesi içerdiği bilinmektedir. İnsan umbilikal ven endotelial hücrelerinde (HUVECs) yapılan çalışmada bir sitokin olan tümör nekroz faktör α 'nın (TNF- α) miR-155 sentezini artırdığı ve artan miR155 sentezinin eNOS ekspresyonunu azaltarak NO üretimini düşürdüğü ve buna bağlı olarak da vazodilatasyonun bozulduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada ek olarak simvastatinin miR-155 ekspresyonunu düşürerek TNF- α ile indüklenen endotelial fonksiyon bozukluğunu ortadan kaldırdığı için simvastatin gibi miR-155 inhibitörlerinin de terapötik ajan olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (73).

eNOS için bağlanma bölgesi içeren miRNA' lardan bir diğeri ise miR-200b'dir. eNOS'u hedefleyen miR-200b'nin, indüklenen hipoksi durumunda artan düzeyleri HUVEC hücrelerinde eNOS ve nitrik oksit üretimini azaltmaktadır. miR-200b'nin etkileri inhibe edildiğinde ise eNOS protein seviyeleri artmakta ve buna

bağlı olarak nitrik oksit seviyeleri yükselmektedir. Bundan dolayı nitrik oksit biyoyararlanımını artırmak pek çok kardiyovasküler hastalık için terapötik bir hedef olabilir (74). Yine in-vitro bir çalışmada miR-24'ün endotelial hücrelerde eNOS ekspresyonu ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (75).

Cengiz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada eNOS'u hedefleyen miR-21'in hipertansif bireylerde yüksek oranda eksprese edildiğini buna karşın eNOS ve nitrik oksit düzeylerinin önemli ölçüde düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada plazma miR-21 ekspresyon düzeyleri ile karotis intima-media kalınlığı (CMIT) artışının pozitif bir ilişki içinde olduğu bildirilmiştir (76).

Diğer taraftan, HPAEC (Primary Human Pulmonary Artery Endothelial Cells) hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada miR-27b'nin eNOS üretimini bozmadan nitrik oksit düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir. Bunu da eNOS sentezini azaltmasıyla değil, eNOS'un aktif olarak çalışabilmesi için bağlı olması gerektiği Hsp90'la eNOS'un etkileşimini azaltarak başardığını belirtmişlerdir (77).

SEMPATİK SİNİR SİSTEMİ

Sempatik sinir sistemi de kan basıncının ayarlanmasında önemli görevler üstlenir. Genetik olarak hipertansif fareler (BPH/2J) üzerinde yapılan bir çalışmada böbrek sempatik sinir sisteminin aşırı uyarılmasıyla miR-181a üretiminin azaldığı ve buna bağlı olarak renin sentezinin arttığı belirtilmiştir (78).

Spontan hipertansif ratlarda (SHR), miR-135a ve miR-376'nın aşırı ekspresyonu artan sempatik sinir aktivitesi ile ilişkili olup yükselen kan basıncına ve inflamasyona katkıda bulunmaktadır (79). Yine SHR ratlarda yapılan bir çalışma, miR-22 tarafından katekolamin sentezinde görev alan Chromogranin A (CHGA)'nin ekspresyonunun azaltıldığını göstermiştir. Buna bağlı olarak beyin sapındaki düşen norepinefrin düzeyleri nedeniyle artan merkezi ve çevresel sinir sistemi aktivasyonunun kan basıncının yükselmesine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (80).

Dörr ve arkadaşlarının yaptığı klinik bir çalışma, renal sempatik sinir sistemi aktivasyonunun dolaşımdaki miR-133a düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir. Aynı çalışmada renal denervasyon sonrasında dolaşımdaki miR-133a konsantrasyonunda yaklaşık 7 kat artış ve sistolik kan basıncında ise yaklaşık 20 mmHg'lik bir azalma rapor edilmiştir (81).

SONUÇ

miRNA'lar, hipertansiyon da dahil olmak üzere pek çok kardiyovasküler hastalık için temel olan fizyolojik/patolojik süreçleri kontrol eden düzenleyici bir mekanizmayı temsil eder. Kitabın bu bölümünde, miRNA ekspresyonundaki bozuk-

lukların hipertansiyon gelişimine katkıda bulunan genlerin ekspresyon düzeylerini değiştirerek hastalığın gelişimine ne gibi katkılar sağladığı çeşitli hücre kültürü, hayvan ve klinik araştırma örnekleri ile anlatılmıştır. miRNA kontrol mekanizmaları üzerinde yapılacak ileriki çalışmalar sadece hipertansiyon değil daha pek çok poligenik/karmaşık hastalık için yeni diyagnostik, prognostik ve terapötik hedefler sunacaktır.

KAYNAKÇA

1. Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet*. 2021;398(10304):957-80.
2. Xu X, Ding X, Zhang X, Su S, Treiber FA, Vlietinck R, et al. Genetic and environmental influences on blood pressure variability: a study in twins. *J Hypertens*. 2013;31(4):690-7.
3. Fischer SEJ. RNA Interference and MicroRNA-Mediated Silencing. *Curr Protoc Mol Biol*. 2015;112:26.1.1-.1.5.
4. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(8):509-24.
5. Lam JK, Chow MY, Zhang Y, Leung SW. siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015;4(9):e252.
6. de Rie D, Abugessaisa I, Alam T, Arner E, Arner P, Ashoor H, et al. An integrated expression atlas of miRNAs and their promoters in human and mouse. *Nat Biotechnol*. 2017;35(9):872-8.
7. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogossova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10513-8.
8. Parreira RC, Lacerda LHG, Vasconcellos R, Lima SS, Santos AK, Fontana V, et al. Decoding resistant hypertension signalling pathways. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131(23):2813-34.
9. Li C, Pei F, Zhu X, Duan DD, Zeng C. Circulating microRNAs as novel and sensitive biomarkers of acute myocardial infarction. *Clin Biochem*. 2012;45(10-11):727-32.
10. Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *Plant Cell*. 1990;2(4):279-89.
11. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75(5):843-54.
12. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000;403(6772):901-6.
13. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000;408(6808):86-9.
14. Lao TD, Le TAH. MicroRNAs: Biogenesis, Functions and Potential Biomarkers for Early Screening, Prognosis and Therapeutic Molecular Monitoring of Nasopharyngeal Carcinoma. *Processes*. 2020;8(8):966.
15. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:402.
16. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003;425(6956):415-9.
17. Svoboda P. Introduction to RNAi and miRNA pathways2020.
18. Alarcón CR, Lee H, Goodarzi H, Halberg N, Tavazoie SF. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*. 2015;519(7544):482-5.

19. Wang X, Xu X, Ma Z, Huo Y, Xiao Z, Li Y, et al. Dynamic mechanisms for pre-miRNA binding and export by Exportin-5. *Rna*. 2011;17(8):1511-28.
20. Roberts TC. The microRNA Machinery. *Adv Exp Med Biol*. 2015;887:15-30.
21. Sontheimer EJ. Assembly and function of RNA silencing complexes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(2):127-38.
22. Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol*. 2005;3(3):e85.
23. Xie M, Li M, Vilborg A, Lee N, Shu MD, Yartseva V, et al. Mammalian 5'-capped microRNA precursors that generate a single microRNA. *Cell*. 2013;155(7):1568-80.
24. Babiarz JE, Ruby JG, Wang Y, Bartel DP, Blelloch R. Mouse ES cells express endogenous shRNAs, siRNAs, and other Microprocessor-independent, Dicer-dependent small RNAs. *Genes Dev*. 2008;22(20):2773-85.
25. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007;448(7149):83-6.
26. Cheloufi S, Dos Santos CO, Chong MMW, Hannon GJ. A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature*. 2010;465(7298):584-9.
27. Yang J-S, Maurin T, Robine N, Rasmussen KD, Jeffrey KL, Chandwani R, et al. Conserved vertebrate *mir-451* provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(34):15163-8.
28. Nishihara T, Zekri L, Braun JE, Izaurralde E. miRISC recruits decapping factors to miRNA targets to enhance their degradation. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(18):8692-705.
29. Chen Y, Boland A, Kuzuoglu-Öztürk D, Bawankar P, Loh B, Chang CT, et al. A DDX6-CNOT1 complex and W-binding pockets in CNOT9 reveal direct links between miRNA target recognition and silencing. *Mol Cell*. 2014;54(5):737-50.
30. Djuranovic S, Nahvi A, Green R. miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay. *Science*. 2012;336(6078):237-40.
31. Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev*. 2004;18(5):504-11.
32. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005;120(1):15-20.
33. Ghosal S, Saha S, Das S, Sen R, Goswami S, Jana SS, et al. miRepress: modelling gene expression regulation by microRNA with non-conventional binding sites. *Sci Rep*. 2016;6:22334.
34. Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Res*. 2009;19(7):1175-83.
35. Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thromb Haemost*. 2012;107(4):605-10.
36. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009;19(1):92-105.
37. miRBase. The microRNA Database [Available from: <https://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl>].
38. Klimczak D, Jazdzewski K, Kuch M. Regulatory mechanisms in arterial hypertension: role of microRNA in pathophysiology and therapy. *Blood Press*. 2017;26(1):2-8.
39. Jusic A, Devaux Y. Noncoding RNAs in Hypertension. *Hypertension*. 2019;74(3):477-92.
40. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev*. 2006;86(3):747-803.
41. Fountain JH LS. *Physiology, Renin Angiotensin System*. Internet: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470410/>.
42. Fitzsimons JT. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev*. 1998;78(3):583-686.
43. Marques FZ, Campain AE, Tomaszewski M, Zukowska-Szczechowska E, Yang YH, Charchar FJ, et al. Gene expression profiling reveals renin mRNA overexpression in human hypertensive kidneys and a role for microRNAs. *Hypertension*. 2011;58(6):1093-8.
44. Li H, Xie Y, Liu Y, Qi Y, Tang C, Li X, et al. Alteration in microRNA-25 expression regulate cardiac function via renin secretion. *Exp Cell Res*. 2018;365(1):119-28.

45. Robertson S, MacKenzie SM, Alvarez-Madrazo S, Diver LA, Lin J, Stewart PM, et al. MicroRNA-24 is a novel regulator of aldosterone and cortisol production in the human adrenal cortex. *Hypertension*. 2013;62(3):572-8.
46. Hao S, Salzo J, Zhao H, Hao M, Darzynkiewicz Z, Ferreri NR. MicroRNA-133a-Dependent Inhibition of Proximal Tubule Angiotensinogen by Renal TNF (Tumor Necrosis Factor). *Hypertension*. 2020;76(6):1744-52.
47. Liu B, Lan M, Wei H, Zhang D, Liu J, Teng J. Downregulated microRNA-133a induces HUVE-Cs injury: Potential role of the (pro) renin receptor in angiotensin II-dependent hypertension. *Mol Med Rep*. 2019;20(3):2796-804.
48. Jeppesen PL, Christensen GL, Schneider M, Nossent AY, Jensen HB, Andersen DC, et al. Angiotensin II type 1 receptor signalling regulates microRNA differentially in cardiac fibroblasts and myocytes. *Br J Pharmacol*. 2011;164(2):394-404.
49. Eskildsen TV, Jeppesen PL, Schneider M, Nossent AY, Sandberg MB, Hansen PB, et al. Angiotensin II regulates microRNA-132/-212 in hypertensive rats and humans. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):11190-207.
50. van Zonneveld AJ, Au YW, Stam W, van Gelderen S, Rotmans JI, Deen PMT, et al. MicroRNA-132 regulates salt-dependent steady-state renin levels in mice. *Commun Biol*. 2020;3(1):238.
51. Kemp JR, Unal H, Desnoyer R, Yue H, Bhatnagar A, Karnik SS. Angiotensin II-regulated microRNA 483-3p directly targets multiple components of the renin-angiotensin system. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;75:25-39.
52. Kohlstedt K, Trouvain C, Boettger T, Shi L, Fisslthaler B, Fleming I. AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin-converting enzyme expression via p53 and the post-transcriptional regulation of microRNA-143/145. *Circ Res*. 2013;112(8):1150-8.
53. Hu B, Song JT, Qu HY, Bi CL, Huang XZ, Liu XX, et al. Mechanical stretch suppresses microRNA-145 expression by activating extracellular signal-regulated kinase 1/2 and upregulating angiotensin-converting enzyme to alter vascular smooth muscle cell phenotype. *PLoS One*. 2014;9(5):e96338.
54. Lambert DW, Lambert LA, Clarke NE, Hooper NM, Porter KE, Turner AJ. Angiotensin-converting enzyme 2 is subject to post-transcriptional regulation by miR-421. *Clin Sci (Lond)*. 2014;127(4):243-9.
55. Song JJ, Yang M, Liu Y, Song JW, Wang J, Chi HJ, et al. MicroRNA-122 aggravates angiotensin II-mediated apoptosis and autophagy imbalance in rat aortic adventitial fibroblasts via the modulation of SIRT6-elabela-ACE2 signaling. *Eur J Pharmacol*. 2020;883:173374.
56. Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, Schmittgen TD, Elton TS. MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts. *J Biol Chem*. 2013;288(6):4226.
57. Yang LX, Liu G, Zhu GF, Liu H, Guo RW, Qi F, et al. MicroRNA-155 inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014;15(2):109-16.
58. Ceolotto G, Papparella I, Bortoluzzi A, Strapazzon G, Ragazzo F, Bratti P, et al. Interplay between miR-155, AT1R A1166C polymorphism, and AT1R expression in young untreated hypertensives. *Am J Hypertens*. 2011;24(2):241-6.
59. Chu HT, Li L, Jia M, Diao LL, Li ZB. Correlation between serum microRNA-136 levels and RAAS biochemical markers in patients with essential hypertension. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(22):11761-7.
60. Li L, Zhong D, Xie Y, Yang X, Yu Z, Zhang D, et al. Blood microRNA 202-3p associates with the risk of essential hypertension by targeting soluble ST2. *Biosci Rep*. 2020;40(5).
61. Zhang JR, Sun HJ. MiRNAs, lncRNAs, and circular RNAs as mediators in hypertension-related vascular smooth muscle cell dysfunction. *Hypertens Res*. 2021;44(2):129-46.
62. Albinsson S, Skoura A, Yu J, DiLorenzo A, Fernández-Hernando C, Offermanns S, et al. Smooth muscle miRNAs are critical for post-natal regulation of blood pressure and vascular function. *PLoS One*. 2011;6(4):e18869.
63. Boettger T, Beetz N, Kostin S, Schneider J, Krüger M, Hein L, et al. Acquisition of the contractile phenotype by murine arterial smooth muscle cells depends on the Mir143/145 gene cluster. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2634-47.

64. Elia L, Quintavalle M, Zhang J, Contu R, Cossu L, Latronico MV, et al. The knockout of miR-143 and -145 alters smooth muscle cell maintenance and vascular homeostasis in mice: correlates with human disease. *Cell Death Differ.* 2009;16(12):1590-8.
65. Xu D, Liao R, Wang XX, Cheng Z. Effects of miR-155 on hypertensive rats via regulating vascular mesangial hyperplasia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(21):7431-8.
66. Lee J, Kang H. Hypoxia Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation through microRNA-Mediated Suppression of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors. *Cells.* 2019;8(8).
67. Meloche J, Le Guen M, Potus F, Vinck J, Ranchoux B, Johnson I, et al. miR-223 reverses experimental pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015;309(6):C363-72.
68. Dluzen DF, Kim Y, Bastian P, Zhang Y, Lehrmann E, Becker KG, et al. MicroRNAs Modulate Oxidative Stress in Hypertension through PARP-1 Regulation. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:3984280.
69. Sang HY, Jin YL, Zhang WQ, Chen LB. Downregulation of microRNA-637 Increases Risk of Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension by Modulating Expression of Cyclin Dependent Kinase 6 (CDK6) in Pulmonary Smooth Muscle Cells. *Med Sci Monit.* 2016;22:4066-72.
70. Yang F, Li H, Du Y, Shi Q, Zhao L. Downregulation of microRNA-34b is responsible for the elevation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Mol Med Rep.* 2017;15(3):1031-6.
71. Kontaraki JE, Marketou ME, Zacharis EA, Parthenakis FI, Vardas PE. Differential expression of vascular smooth muscle-modulating microRNAs in human peripheral blood mononuclear cells: novel targets in essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2014;28(8):510-6.
72. Park MY, Herrmann SM, Saad A, Widmer RJ, Tang H, Zhu XY, et al. Circulating and renal vein levels of microRNAs in patients with renal artery stenosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(3):480-90.
73. Sun HX, Zeng DY, Li RT, Pang RP, Yang H, Hu YL, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension.* 2012;60(6):1407-14.
74. Janaszak-Jasiecka A, Siekierzycka A, Bartoszewska S, Serocki M, Dobrucki LW, Collawn JF, et al. eNOS expression and NO release during hypoxia is inhibited by miR-200b in human endothelial cells. *Angiogenesis.* 2018;21(4):711-24.
75. Zhang W, Yan L, Li Y, Chen W, Hu N, Wang H, et al. Roles of miRNA-24 in regulating endothelial nitric oxide synthase expression and vascular endothelial cell proliferation. *Mol Cell Biochem.* 2015;405(1-2):281-9.
76. Cengiz M, Yavuzer S, Kılıçkiran Avcı B, Yürüyen M, Yavuzer H, Dikici SA, et al. Circulating miR-21 and eNOS in subclinical atherosclerosis in patients with hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 2015;37(8):643-9.
77. Bi R, Bao C, Jiang L, Liu H, Yang Y, Mei J, et al. MicroRNA-27b plays a role in pulmonary arterial hypertension by modulating peroxisome proliferator-activated receptor γ dependent Hsp90-eNOS signaling and nitric oxide production. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;460(2):469-75.
78. Jackson KL, Gueguen C, Lim K, Eikelis N, Stevenson ER, Charchar FJ, et al. Neural suppression of miRNA-181a in the kidney elevates renin expression and exacerbates hypertension in Schläger mice. *Hypertens Res.* 2020;43(11):1152-64.
79. DeCicco D, Zhu H, Brureau A, Schwaber JS, Vadigepalli R. MicroRNA network changes in the brain stem underlie the development of hypertension. *Physiol Genomics.* 2015;47(9):388-99.
80. Friese RS, Altschuler AE, Zhang K, Miramontes-Gonzalez JP, Hightower CM, Jirout ML, et al. MicroRNA-22 and promoter motif polymorphisms at the Chga locus in genetic hypertension: functional and therapeutic implications for gene expression and the pathogenesis of hypertension. *Hum Mol Genet.* 2013;22(18):3624-40.
81. Dörr O, Liebetrau C, Möllmann H, Gaede L, Troidl C, Lankes S, et al. Effect of Renal Sympathetic Denervation on Specific MicroRNAs as an Indicator of Reverse Remodeling Processes in Hypertensive Heart Disease. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2016;18(6):497-502.