

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalarında
HIF1 ve IL1 Genlerinin Ekspresyonu ile Hipertansiyon Gelişimi Arasındaki
İlişkinin Araştırılması**

Proje No: TCD-2017-6949

Çok Disiplinli Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Doç. Dr. İsmail Koçyiğit

Dahili Tıp Bilimleri/İç Hastalıkları

Doç. Dr. Serpil Taheri/ Tıbbi Biyoloji A.B.D.
Arş. Gör. Eray Eroğlu /Dahili Tıp Bilimleri
Arş. Gör. İlknur Uzun /Dahili Tıp Bilimleri
Öğrenci TUĞBA TOPALOĞLU

Aralık 2017

KAYSERİ

Teşekkür

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Yönetim Birimine TCD-2017-6949 no'lu projenin desteği için teşekkür ederiz.

İçindekiler

Özet	5
Abstract	6
Giriş	7
Yöntem	9
Çalışma Populasyonu	9
RNA İzolasyonu ve Gen İfadesi Çalışmaları.....	10
İdrar Örnekleri.....	10
Kan Örnekleri.....	10
cDNA İzolasyonu ve <i>HIF-1α</i> and <i>IL1-β</i> gen ekspresyonları için Gerçek Zamanlı PCR.....	11
Süksinik Asit Seviyelerinin Ölçülmesi	11
Ambulatuvar Kan Basıncı Ölçümü	11
Nabız Dalga Hızı.....	11
Ekokardiyografi.....	12
Endotel Fonksiyon Testi.....	12
İstatistiksel Analiz	13
Bulgular	14
Tartışma ve Sonuç	15
Kaynaklar	19
Şekiller ve Tablolar	23

ÖZET

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPBH), böbreklerin kistik genişlemesi nedeniyle erken hipertansiyon oluşumu ile ilişkilidir. Kist basıncı, renin-anjiyotensin-aldosteron sistem aktivasyonunu ve böbrek hipoksisini indükler. LipoPolisakkarit (LPS) ile tetiklenen toll-like reseptör (TLR) aktivasyonu artmış süksinat seviyeleri, hipoksi ile uyarılan faktörlerin tetiklediği metabolik bozukluklara neden olur ve bu da IL1- β aktivasyonu yoluyla inflamasyona neden olur. Aksi halde, ODPBH'li hastalardan bağımsız olarak renal disfonksiyona bağlı inflamasyon belirgindir. Biz bu hastalığın hem klinik seyri hem de iltihap ve hipoksi rolünü araştırmayı amaçladık. ODPBH 'nın serumda ki süksinat seviyeleri, kan ve idrardan elde edilmiş RNA'lerden HIF-1 α ve IL-1- β gen ekspresyon ifadelerine bakılmıştır. Bu kesitsel çalışmaya 100 polikistik böbrek hastasından ve 100 eşleştirilmiş sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. Tüm katılımcılara yirmi dört saatlik ambulatuvar kan basıncı ölçümü yapılmıştır. Biyokimyasal parametreler, serumdaki süksinat seviyesi, idrar RNA' sından HIF-1 α gen ekspresyonu ve kan RNA'sından IL1- β ifadesi ölçümü için Kan ve idrar örnekleri 12 saat açlıktan sonra alınmıştır. Çalışmada yer alan 100 hastanın 48'i erkek, yaş ortalaması 45,1 $\pm$ 12,9 yıl idi. 100 kontrolün ortalama yaşı 34,9 $\pm$ 7,3, kontrol grubunun % 44'ü erkekti. ODPBH hastaları ile kontrol grubu arasında serumda ki HIF-1 α , IL1- β mRNA ekspresyonu ve süksinat seviyelerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Total kan RNA'sından HIF-1 α gen ekspresyonu, IL1- β gen ekspresyonu ve serum da süksinat seviyeleri, hipertansif ODPBH hastalarında normotansif olanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık göstermiştir (p <0.05). HIF-1 α gen ekspresyonunun, ODPBH'li hastalarda sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. ODPBH'li hastalarda yaş arttıkça, düşük eGFR'inde, HIF-1 α ve IL1- β mRNA ekspresyonundan bağımsız olarak hipertansiyon ile ilişkisi bulunmuştur. ODPBH'de hem inflamasyon hem de hipoksi, hipertansiyon ile ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, süksinat seviyeleri, *HIF-1 α* , *IL1- β*

Abstract

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is associated with early hypertension occurrence due to cystic expansion of the kidneys. Cyst pressure induces renin-angiotensin-aldosterone system activation and kidney hypoxia. LipoPolysaccarite (LPS) induced toll-like receptor (TLR) activation causes metabolic disturbances that is triggered by increased succinate levels, hypoxia inducible factors, which results in inflammation via IL1- β activation. Otherwise, inflammation is evident in patients with ADPKD independently from renal dysfunction. Since we aimed to investigate the role of both inflammation and hypoxia in clinical course of ADPKD, we measured serum succinate levels, blood and urine HIF-1 α mRNA gene expression and blood IL1- β mRNA gene expression in patients with ADPKD. One hundred ADPKD patients and 100 matched healthy controls were enrolled to this cross-sectional study. Twenty-four-hour ambulatory blood pressure monitoring was conducted in all participants. Blood and urine samples were taken after 12-h fasting for the measurement of biochemical parameters and serum succinate levels, blood and urine HIF1- α mRNA gene expression and IL1- β mRNA gene expression. Briefly, of the 100 patients, 48 were male with a mean age of $45,1 \pm 12,9$ years. The 100 controls had a mean age of $34,9 \pm 7,3$ years, and 44 % of them were male. There were significant differences in blood HIF-1 α , IL1- β mRNA gene expression and succinate levels between the ADPKD patients and the control subjects. HIF-1 α gene expression, IL1- β gene expression and succinate levels was also significantly different in ADPKD patients with hypertension in comparison with normotensive ones ($p < 0.05$). HIF-1 α mRNA expression was increased in patients with ADPKD than healthy subjects. Increased age, low eGFR, HIF-1 α and IL1- β mRNA expression were also independently associated with hypertension in ADPKD patients. Inflammation and hypoxia are both relevant factors might be associated with hypertension in ADPKD.

Keywords: Autosomal dominant polycystic kidney disease, Succinate levels, HIF-1 α , IL1- β

Giriş

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPBH), son dönem böbrek yetmezliğinin en yaygın görülen kalıtsal nedenidir ve tahminen 400 ila 1000 kişide 1 sıklığında görülür. Bu hastalığa plazma membranını kapsayan polikistin 1 ve polikistin 2 (PKD1 ve PKD2,sırasıyla) kodlayan iki genin mutasyonları neden olur (1). Hastalığın genetik geçişi tanımlanmış olmasına rağmen, ilerlemesi tam olarak açıklanamamıştır. ODPBH'nin belirgin özelliği böbrek ve kardiyovasküler belirtileri ile sonuçlanan ilerleyici kistik böbrek büyümesidir. Hipertansiyon, renal fonksiyon düşmeden önce hastaların yaklaşık % 60'ında ortaya çıkan ve hastanın hayatta kalmasını etkileyen yaygın bir bulgudur (2). Renin-anjiotensin aldosteron sisteminin (RAAS) aktivasyonu hipertansiyon hastalığının oluşmasında önemli rol oynamasına rağmen, sempatik hiperaktivite, endotel disfonksiyonu, inflamasyon, oksidatif stres ve arteriyel sertlik gibi diğer faktörler hipertansiyon oluşumuna sebep olur (2,3-5). Üstelik ODPBH populasyonunun klinik seyrinde ki değişkenlik, araştırmacıların hipertansiyon ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkili nedenleri araştırmasına neden olmuştur.

Doğuştan bağışıklık sistemi, işgalci patojenlere karşı ilk savunma hattı görevi üstlenir. Toll-like reseptörler (TLR) kalıp tanıma reseptörleri adı verilen reseptörler ailesidir ve reseptör patojen ile ilişkili moleküler kalıpların yanı sıra konak türevi tehlike sinyallerini de tanır (6). Kanıtlar gösteriyor ki, TLR' lerin inflamasyon ve hasara karşı inflamatuvar ve doku onarımı tepkilerinin düzenlenmesi yoluyla böbrek hastalıklarında önemli rolleri olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Bu reseptörler konakçı savunmasında koruyucudur, aynı zamanda inflamatuvar ve immün aracılı böbrek hastalıklarında kendiliğinden var olan doku hasarında önemli bir rol oynamaktadır (7). TLR2 ve TLR4 reseptörleri renal fibroz patogenezinde farklı roller oynamaktadır; TLR2 pro-inflamatuvar yanıtları başlatırken, TLR4 hem pro-inflamatuvar hem de pro-fibrotik yollara aracılık eder (8).

“Warburg etkisi” olarak bilinen, değiştirilmiş mitokondriyal metabolizma derinlemesine araştırılmış ve son zamanlarda süksinatın, HIF1 α aktivasyonuna yol açan, Lypopolysakcarite (LPS) tarafından TLR4'ün aktivasyonuna yanıt olarak üretilen bir sinyal olduğu bilinmektedir. LPS tarafından TLR4'ün etkinleştirilmesi, metabolizmada artmış glikoliz ve pentoz fosfat yolağında değişime yol açar. Buna ek olarak, LPS süksinatta bir artış olması için trikarboksilik asit (TCA) döngüsünü değiştirir. Bu durum, hem a-ketoglutarata anapleroz hem de GABA şantı aracılığıyla glutamin metabolizmasında değişikliğe yol açar. Süksinat daha sonra prolil hidroksilazları (PHD) inhibe eder, HIF1 α 'ı artırır, IL-1 β ve diğer genlerin ifade olmasını destekler (9). Ancak, bu metabolik değişiklikler ODPBH hastalarında çalışılmamıştır. ODPBH klinik seyrinde böbrek fonksiyonlarında bozulma olmaksızın inflamasyon varlığı ve TLR'lerin olası rolü daha önceki çalışmalarımızla gösterilmiştir (10,11).

HIF-1 α 'nın böbrek hipoksisine metabolik yanıtlara aracılık ettiği ve artmış hücre çoğalması, anjiyogenez ve apoptoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (12). Ayrıca, çeşitli böbrek hastalıklarında hipoksi ile uyarılan mekanizmaların potansiyel rolünü araştırmak için son zamanlarda HIF-1 α 'nın etkileri araştırılmaya başlanmıştır (13-15). HIF-1 α , hipertansif kronik böbrek hastalığında (HKBH) tubulo interstisyel fibroze birçok vazoaktif proteini kodlayan genleri modifiye ederek bağlanmıştır (16). Dahası, HIF-1 α gen ifadeleri endotel hücrelerindeki endotel glomerüler hasarları, hipertansiyon ve HKBH ilerlemesini indükler (14). Hipoksi, polikistik böbreklerde kist genişlemesine bağlı yaygın bir sorundur. Bu nedenle, polikistik böbrek hayvan modellerinde HIF-1 α 'nın potansiyel rolü araştırılmıştır (15). HIF-1 α 'nın, polikistik böbrek sıçan modellerinde yüksek oranda eksprese edildiği ve perikistik hipervaskülariteyle ilişkili olduğu görülmüştür (17). Bir başka çalışmada ise, renal kistlerde ki hipoksi, HIF-1 α 'ya bağımlı kalsiyum aktive klorür sekresyonu yoluyla kist büyümesine neden olur (18). Bu sonuçlar gösteriyor ki, HIF-1 α aktivasyonunun polikistik

böbrek hastalığının ilerlemesinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir; fakat ODPBH hastalarında HIF-1 α mRNA gen ekspresyonu ile hipertansiyon arasında ilişki bulunmamıştır. Bundan dolayı, kistik basınç, lokal böbrek iskemisi ve inflamasyonun hipoksi ile faktör 1 alfa gibi indüklenebilen lokal faktörler yoluyla hem hipertansiyon hem de böbrek yapısında bozulmaya neden olabileceği hipotezi kurulmuştur.

Bu nedenlerle bu çalışmada, serum süksinat seviyeleri, HIF-1 α ve IL-1 β gen ifadesi ile gözlemlenen ODPBH klinik seyrinde inflamasyon ve hipoksinin olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem

Çalışma Popülasyonu

Çalışmamıza Erciyes Üniversitesi Nefroloji polikliniği takibinde olan, herhangi bir renal replasman tedavisi almayan, Pei ve arkadaşları tarafından onaylanan ultrasonografik (19) kriterlerle teyit edilmiş olan ve aile hikayesi ile kanıtlanmış 100 ODPB hasta ve 100 tane sağlıklı birey seçilmiştir. Herhangi bir ilaç kullanmayan gönüllü grubu, bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alındıktan sonra çalışmaya dahil edilmiştir. Üriner sistem inflamasyonları ve üriner sisteminde böbrek taşı olmayan hastalar seçilmiştir. Hastaların biyokimyasal parametreleri Kronik Böbrek Hastaları Birliği (CKD-EPI) denklemi kullanılarak glomerül filtrasyon hızları hesaplanmıştır (20). Kan örnekleri, oturan bir pozisyonda olan katılımcılardan 12 saatlik açlıktan sonra antekübital fossa damarından, 20 dakikalık dinlenmenin ardından alınmıştır. Standart yöntemlerle, kanda ki glikoz, kreatinin ve lipid seviyeleri belirlenmiştir.

RNA İzolasyonu ve Gen İfadesi Çalışmaları

İdrar Örnekleri

Hastalardan ve kotrollerden alınan 10 ml idrar örneği, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve idrar hücre pelleti yeniden süspansiyon yapılmıştır. İdrar ve kandan RNA izole etmek için, TriPure Isolation Reagent (Roche) kiti kullanılmıştır.

Kan Örnekleri

Kantitatif gerçek zamanlı PCR gen polimorfizmi çalışmak için hastalardan ve kontrol grubundan etilendiamin tetraasetik asitli (EDTA) tüp içerisine 2 mililitre (ml) venöz kan örneği alınmıştır. RNA izolasyonu için üreticinin talimatlarına göre EDTA'lı kan örneklerinden TriPure Isolation Reagent (Roche) kiti kullanarak RNA elde edilmiştir.

İdrar ve kan RNA'ları seyreltmek için Nuclease Free Water (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır. Biospec-Nano spektrofotometre (Shimadzu Biotech, Kyoto, Japan) kullanılarak RNA'nın miktarı ve kalitesi ölçülmüştür. RNA örnekleri in-vitro kullanılana kadar -80°C'de saklanmıştır.

cDNA İzolasyonu ve *HIF-1α* and *IL1-β* gen ekspresyonları için Gerçek Zamanlı PCR

cDNA sentezi, seyreltilmiş RNA'lardan 1 ug High Fidelity cDNA Synthesis Kiti (Roche) kullanılarak yapılmıştır. cDNA sentezi için üreticinin talimatları uygulanmış ve β -actin (ACTB) housekeeping gen olarak kullanılmıştır. cDNA amplifiye edilme protokolü sırasıyla; 10 dakika 29°C, 60 dakika 48°C ve 5 dakika 85°C. HIF-1 α , IL1- β ve ACTB genlerinin gerçek zamanlı PCR reaksiyonu yapılması için Roche Light Cycler 480 cihazı kullanılmıştır. Döngü koşulları sırasıyla şunlardır; 10 dakika 95°C, 45 döngü 95°C'de 10 sn, 60°C'de 30 sn ve 72°C'de 1 dakikadır. Sonuncu soğutma basamağı ise 40°C'de 30 saniyedir. Tüm örnekler manipulasyondan doğacak hataları önlemek için çift çalışılmıştır. Çift çalışılan örneklerin istatistiksel hesaplamaları yapılabilmesi için ortalamaları alınmıştır.

Kantitatif gerçek zamanlı PCR sonuçları $2^{\Delta\Delta CT}$ türev metodu kullanılarak normalize edilerek hesaplanmıştır.

Süksinik Asit Seviyelerinin Ölçülmesi

Hastalardan ve kontrol grubundan süksinik asit seviyesini belirlemek için, biyokimya tüpüne 2 ml venöz kan örneği alınmıştır. 4000 rpm’de 20 dk santrifüj edilip, serum örnekleri elde edilmiştir. Süksinat seviyelerini ölçmek için Succinate Calorimetric Assay Kiti (BioVision, ABD) kullanılmıştır. Bu prosedür üreticinin talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir. Her serum örneği için süksinik asidin seviyeleri, 450 nm absorbansda GloMax-Multi Microplate Multimode Reader (Promega, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Üretici protokolüne göre; süksinik asit seviye miktarları hesaplanmıştır.

Ambulatuvar Kan Basınç Ölçümü

Yirmidört saatlik kan basıncı izleme Del Mar Tıbbi Ressurometre Modeli P6 (Del Mar Reynolds, Irvine, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar üreticinin bilgisayar yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Ambulatuvar, sabah saat 7’de başlayıp akşam 11’e kadar her 15 dakikada bir, akşam 11’den sabah 7’ye kadar ise her 30 dakikada bir ölçüm yapıp, sonuçlar kayıt altına alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, gece ve gündüz verilerinin ortalaması alınarak değerlendirilmiştir. Eğer ortalama günlük sistolik kan basıncı 130 mm Hg’den büyük eşit (≥ 130 mmHg) ve/veya diyastolik kan basıncı 80 mm Hg’den büyük eşit ise (≥ 80 mmHg) veya kişinin antihipertansif ilaç kullandığı durumlar var ise hipertansiyon olduğu kabul edilmiştir.

Nabız Dalga Hızı

Sessiz, sakin ve sıcaklık kontrolü olan bir odada hasta ve kontrol grubuna yatar pozisyonunda vasküler incelemeler yapılmıştır. Sistolik ve diyastolik kan basınçları, yarı otomatik, non-invaziv bir osilometrik sfigmomanometre kullanılarak, 10 dakikalık bir

dinlenme periyodunu takiben, iki kere olarak ölçülmüştür. Karotid ve femoral arterlerde ölçülen nabız dalga hızı, üretici firmanın tavsiyelerine uygun olarak, nabız dalga hızı (NDH) makinesi (Micro Medical Pulse Trace, Rochester, UK) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Transdüserler daima vücudun sağ tarafında ki karotid ve femoral arterlerin üzerine yerleştirilmiştir. NDH, karotis ve femoral arterler arasında nabız dalgası geçme zamanını ölçerek otomatik olarak hesaplanmıştır. Tüm ölçümler hastaların gruplarına göre tek bir operatör tarafından 15 kalp atımı üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Ekokardiyografi

Tüm katılımcılar, 2.5-MHz dönüştürücü ve harmonik görüntüleme ile Vivid 7 aletleri (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, ABD) kullanılarak incelenmiştir. Ekokardiyografiler, yerel ekokardiyografik laboratuvarında kardiyoloji uzmanı tarafından ve Amerikan Ekokardiyografi Derneği'nin tavsiyelerine göre gerçekleştirilmiştir. Ekokardiyografik incelemeler sol tarafa lateral dekubit pozisyonda, parasternal uzun ve kısa aks, apikal görüntüleri elde edilmiştir. Sinüs ritminde en az 3 ardışık atım kaydedilmiş ve ortalama değerler alınmıştır. Uzun eksen görüntüsünde elde edilen sol ventrikül diyastol sonu çapı, sağ ventrikül sistol sonu çapı (LVEDD, LVESD) ve interventriküler septal ve posterior duvar kalınlıkları (IVSd ve LPWd) imleç mitral kapakçıkların ucuna yerleştirilerek M-Mod cihazından görüntüleri alınmıştır. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF) şu denklem kullanılarak hesaplanmıştır; $LVEF \% = (LVEDV - LVESV) / LVEDV \times 100$. Sol ventrikül ağırlığı (LVM) şu denklemi kullanarak hesaplanmıştır; $LVM = 0.8 \times (1.04 [(IVSd + LVEDD + LPWd)^3 - (LVEDD)^3]) + 0.6 \text{ g}$ (21).

Endotel Fonksiyon Testi

Endotel disfonksiyonu, Celemajer ve ark. tarafından tarif edilen metoda göre değerlendirilmiştir (20). Ölçümler, 12-Mhz probu olan bir ATL 5000 ultrason sistemi (Advanced Technology Laboratories Inc., Bothell, WA, ABD) kullanılarak tek bir gözlemci

tarafından yapılmıştır. Kişi muayene başlamadan en az 15 dakika önce sırtüstü pozisyonda dinlendirilmiştir. Herkesin sağ kolundaki antekübital fossadan 2-4 cm yukarıda bulunan brakiyal arterin güvenilir bir şekilde kayıt edilmesini sağlamak için uzatılmış konumda rahatlıkla hareketsiz bırakılmıştır. Diyastol sonu brakiyal arter çapı birbirini takip eden üç ölçümle 2 boyutlu tek kare olarak yapılmıştır. Tüm ultrason görüntüleri daha sonraki körleştirilmiş analiz için Süper Video Ev Sistemi (S-VHS, Japonya) video kaydediciye kaydedilmiştir. Maksimum akım aracılı vazodilatasyon (flow-mediated vasodilation,FMD) çapları, hiperemi sonrası üç ardışık maksimum brakiyal arter çap ölçümünün ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Daha sonra, hesaplanan FMD istirahat halindeki brakiyal arter çapıyla karşılaştırıldığında değişim yüzdesi hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verilerin normalliğini değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi, histogram ve Q-Q plot incelenmiştir. Varyans homojenliğini test etmek için Levene testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki farkları karşılaştırmak için Pearson'ın χ^2 analizi ve Fisher'in ki kare testi uygulanmıştır; sürekli değişkenler arasındaki farkları karşılaştırmak için bağımsız örneklem t-testi ve Mann-Whitney U testleri uygulanmıştır. Kovaryansın tek yönlü analizi, p değerlerini yaşa göre ayarlayarak verileri analiz etmek için yapılmıştır. ODPBH hastalarında hipertansiyonun risk faktörlerini belirlemek için tek değişkenli ve çoklu lojistik regresyon analizleri uygulanmıştır. Tek değişkenli analizler hem ham verilere hemde yaşa göre eşleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Göreceli olasılıklar oranları (Odds), % 95 güven aralıkları (GA) ile hesaplanmıştır. Çoklu modelde 0.25 düzeyinde önemli değişkenler düşünülmüş ve geriye doğru eleme, Wald istatistiği kullanılarak uygulanmıştır. ODPBH hastalarında hipertansiyonun belirlenmesinde bir belirteç olarak HIF-1 α mRNA ekspresyonu için alıcı işletim karakteristiği (AİK) eğrisi de oluşturuldu. AİK eğrisi altındaki alan % 95 GA ile

hesaplanmıştır. Youden indeksi, duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler kullanılarak bir kesme değeri belirlenmiş ve pozitif ve negatif olasılık oranları % 95 güven aralıklarıyla hesaplanmıştır. Analizler, kolay AİK (<http://www.biosoft.hacettepe.edu.tr/easyROC/>) ve R 3.2.0 (www.r-project.org) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. P değerinin % 5'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen demografik özellikler ve ekspresyon verileri Tablo 1'de gösterilmektedir. Kısaca, 100 hastanın 48'i erkek; ortalama yaş $45,1 \pm 12,9$ yıl. Kontrol grubunun yaş ortalaması $42,11 \pm 11,55$, kontrol grubunun % 44'ü erkektir. ODPB hastaları ile kontrol grubu arasında kan HIF-1 α mRNA ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p < 0,001$). ODPB hastaları ile kontroller arasında ortalama kan basıncı, PWV, FMD ve LVM açısından da anlamlı farklılıklar ortaya çıkmıştır ($p < 0,001$).

Ek olarak, kan HIF-1 α mRNA ekspresyonu açısından hipertansiyonlu ve hipertansiyonlu olmayan hastalar arasında anlamlı farklılık tespit edilirken $[1,8 (1,27-3,29) \text{ vs. } 0,85 (0,52-2,16) p < 0,05, \text{ sırasıyla}]$ (Şekil 1, Tablo 2). Serum ürik asit seviyeleri hipertansiyon grubunda anlamlı olarak artmış bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 2).

ODPB hastalarında HIF-1 α gen ifadesi düzeylerine göre laboratuvar ve demografik özelliklerin karşılaştırılması Tablo 3'te gösterilmiştir. Kan basıncı ve proteinüri, düşükten yüksek seviyeli HIF-1 α mRNA gen ifadesine kadar anlamlı derecede artarken, FMD tersine anlamlı olarak azalmıştır.

Korelasyon analizi HIF-1 α mRNA ekspresyonunun sırasıyla FMD, PWV, LVM ve eGFR ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Tablo 4). Yapılan istatistiksel analizler doğrultusunda HIF-1 α mRNA ifadesinde artışın, hipertansiyon riskini 1.73 kat artırdığı tespit edilmiştir (p

<0.05) (Tablo 5). Ek olarak, ODPBH hastalarında yaş, IL-1 β mRNA ekspresyonu ve eGFR'nin hipertansiyonu belirlemede bağımsız risk faktörleri olduğu tespit edilmiştir.

Son olarak, ODPBH hastalarında hipertansiyonun öngörülmesinde HIF-1 α mRNA ekspresyon değerleri için ROC analizi Şekil 2'de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma ODPB hastalarının klinik seyrinde serum süksinat düzeyleri, IL-1 β mRNA ekspresyonu, kan ve idrar HIF-1 α mRNA ekspresyonunun potansiyel rolünü araştırmak için yapılmıştır. Bu çalışma ile ODPBH hastalarında üç önemli bulgu elde edilmiştir. İlk olarak kan HIF-1 α ve IL-1 β mRNA ekspresyonu ODPBH hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin şekilde artmıştır. İkincisi, HIF-1 α ve IL-1 β mRNA ekspresyonu hipertansif ODPBH hastalarında normotansif olanlar ile karşılaştırıldığında artış göstermiştir. Üçüncü olarak artan HIF-1 α mRNA ekspresyonu, IL-1 β mRNA ekspresyonu, eGFR yaşı ve düşüşü bağımsız olarak hipertansiyon ile ilişkili bulunmuştur.

Hipertansiyonun erken gelişimi, ODPBH hastalarında görülen önemli klinik problemlerden biridir ve genellikle hastalara teşhis koymada yardımcı olur (1). Hipertansiyon, esansiyel hipertansiyonlu hastalarla (ortalama 45 yaş) karşılaştırıldığında, ODPBH hastalarında (erkekler için ortalama 32; kadınlarda 34 yaş) daha erken yaşta görülür (23). Hipertansiyon, son dönem böbrek hastalığında hızlı ilerleme ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile de ilişkilidir (24, 25). Hipertansif ODPBH hastaları normotansifler ile karşılaştırıldığında daha büyük böbrekleri vardır (26). Kistik genişleme ve bozulmamış nefronlarda kistlerin basıncı, esasen hipertansiyon oluşumuna atfedilen renin-anjiyotensin-aldosteron sistem aktivasyonunu indükler (2). Bununla birlikte, yaygın olarak kabul gören mekanizma olası yerel renal iskemi nedeniyle RAAS aktivasyonudur. Sempatik hiperaktivite, endotel disfonksiyonu, oksidatif stres, intrarenal renin anjiyotensin sistemi aktivasyonu ve inflamasyon gibi diğer faktörler hipertansiyon patogenezinin neden olur (3-5,27). ODPBH

hastalarında hipertansiyon hala potansiyel olarak tedavi edilebilir değişken olarak kalmaktadır. Ayrıca, araştırmacılar, hastalığın ilerlemesindeki önemli rollerinden dolayı sırasıyla ODPBH popülasyonunda sistogenezis ve hipertansiyonda iki tetikleyici patogenetik mekanizmaya odaklanmışlardır.

Hipoksinin böbrek hastalıklarında ortak bir arabulucu olduğu hipotezi, ilk olarak yirmi yıl önce bildirilmiştir (28). Eşzamanlı çalışmalar hipoksinin her türlü kronik böbrek hastalığında fibroze neden olduğunu göstermiştir (29-31). Daha yakın zamanlarda, Luo ve ark. endotel hücrelerinde HIF-1 α geninin uyarılmasının böbrek hasarının gelişimi, hipertansiyon ve Kronik Böbrek Hastalığı (KBH)'nin ilerlemesi açısından zararlı olduğunu göstermiştir (14). KBH'nin en yaygın görülen kalıtsal nedeni olan ODPBH'dir, böbreklerin kistik genişlemesiyle böbrek hipoksisine güçlü bir şekilde bağlanmıştır. Bernhardt ve ark. önce insan ODPBH'sinin PBH sıçanlarında ve böbrek örneklerinde HIF'ler arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. HIF birikiminin perikistik hipervaskülarite ile ilişkili olduğunu ve ODPBH'li bireylerin böbrek örneğinde HIF-1 α 'nın histolojik ifadesini bulduklarını göstermişlerdir (17).

Başka bir çalışmada, Belibi ve ark. PBH sıçanlarında HIF-1 α gen ifadesi ve otofaji çalışmıştır. HIF-1 α 'nın PBH'nin geç evrelerinde yüksek oranda ifade edildiğini ve benzer bir paternde otofaji ile korele olduğunu göstermişlerdir (15). Son olarak, Buchholz ve ark. HIF-1 α ve kist genişlemesi arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Çalışmanın ilginç sonuçları, HIF-1 α 'nın kistlerde kalsiyum ile aktive edilen klorür salınımını indüklediğini ve bunun kist büyümesine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (18). Yukarıdaki çalışmaların sonuçları, farklı patogenetik mekanizmalar yoluyla PBH'da HIF-1 α 'nın rolünü göstermiştir. Bununla birlikte, klinik çalışmalarla ilgili veriler, ODPBH'nin klinik seyrinde HIF-1 α 'nın potansiyel rolünü göstermek için yetersizdir. Bu nedenle, bu çalışmada hipertansif ve normotansif ODPBH hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında serum ve idrar HIF-1 α mRNA ekspresyonunun rolü araştırılmıştır. Klinik olan bu çalışmada, HIF-1 α mRNA

ekspresyonunun ODPBH hastalarında hipertansiyondan bağımsız olarak öngörüldüğü ilk kez gösterilmiştir.

Diğer bir durumda, kısa süre önce ODPBH hastalarının klinik seyrinde TLR gen ifadesinin olası rolü üzerinde çalışılmış ve ayrıca TLR-2 ve TLR-4 gen ifadelerinin hızlı hastalık ilerlemesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Ayrıca, son gelişmeler araştırmacıları, bağışıklık sistemi aktivasyonu yoluyla inflamasyon ile fibroz sürecine neden olabilecek hipoksi arasındaki muhtemel etkileşimi araştırmaya yöneltmiştir.

TLR'ler, özellikle TLR4'ün aktivasyonu, bağışıklık hücrelerinde oksidatif fosforilasyondan glikolize geçişe neden olur. Makrofajlar, gram negatif bakteri ürünü olan lipopolisakkarid (LPS) tarafından aktive edilir ve metabolizmayı oksidatif fosforilasyondan glikolize çevirirler (32,33). Tannahill ve ark. LPS'nin, ara süksinat döngüsünü arttırdığı bildirmiştir. LPS ile indüklenen süksinat da HIF-1 α 'yı stabilize etmiştir. LPS ile uyarılan IL-1 β protein ifadesinin hipoksi altında çarpıcı bir şekilde arttığını tespit etmişler ve süksinatın bu nedenle inflamasyon sırasında artmış IL-1 β üretimine neden olan bağışıklık sinyalizasyonunda bir metabolik olay olarak tanımlandığına karar vermişlerdir (34). Bu bulgular inflamasyonun glikolize yol açtığına ve artan süksinatın HIF-1 α ve IL-1 β aktivasyonu ile ilişkili olabileceğine işaret etmiştir. Bu çalışma, ODPBH ve hipertansiyonu olan hastaların normotansif olanlara kıyasla hem süksinat düzeyleri hem de IL-1 β gen ifade düzeylerinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma sonuçlarımız, inflamasyon ile hipoksi arasındaki potansiyel ilişkiyi göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada azalmış eGFR, yaş artışı ve en önemlisi artmış HIF-1 α ve IL-1 β gen ifadesinin ODPBH' de hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, ilaç geliştirme ve ODPBH' de epigenetik durumun modüle edilmesiyle HIF-1 α yoluyla inflamasyon ve hipoksiyi hedef alan potansiyel terapötik yaklaşımlar ilgi çeken bir araştırma alanı haline gelebilir.

Kaynaklar

1. Ecder T, Fich-Brosnahan GM, Schrier RW. Polycystic kidney disease. In: Schrier RW, Ed. Diseases of the kidney and urinary tract. Philadelphia Williams & Wilkins, 2007; 502-39.
2. Ecder T, Schrier RW. Hypertension in autosomal-dominant polycystic kidney disease: early occurrence and unique aspects. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Jan;12(1):194-200.
3. Klein IH, Ligtenberg G, Oey PL, Koomans HA, Blankestijn PJ. Sympathetic activity is increased in polycystic kidney disease and is associated with hypertension. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Nov;12(11):2427-33.
4. Kocaman O, Oflaz H, Yekeler E, Dursun M, Erdogan D, Demirel S, Alisir S, Turgut F, Mercanoglu F, Ecder T. Endothelial dysfunction and increased carotid intima-media thickness in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2004 May;43(5):854-60.
5. Menon V, Rudym D, Chandra P, Miskulin D, Perrone R, Sarnak M. Inflammation, oxidative stress, and insulin resistance in polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 Jan;6(1):7-13.
6. Anders HJ, Banas B, Schlöndorff D. Signaling danger: toll-like receptors and their potential roles in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:854-67.
7. Leemans JC, Kors L, Anders HJ, Florquin S. Pattern recognition receptors and the inflammasome in kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10:398-414.
8. Yiu WH, Lin M, Tang SC. Toll-like receptor activation: from renal inflammation to fibrosis. *Kidney Int Suppl* 2014;4:20-25.

9. McGettrick AF, O'Neill LA. How metabolism generates signals during innate immunity and inflammation. *J Biol Chem*. 2013 Aug 9;288(32):22893-8.
- 10 . Kocyigit I, Sener EF, Taheri S, Eroglu E, Ozturk F, Unal A, Zararsiz G, Uzun I, Imamoglu H, Sipahioglu MH, Tokgoz B, Oymak O, Ecder T. Toll-Like Receptors in the Progression of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Ther Apher Dial*. 2016 Dec;20(6):615-622.
11. Kocyigit I, Eroglu E, Orselik O, Unal A, Gungor O, Ozturk F, Karakukcu C, Imamoglu H, Sipahioglu MH, Tokgoz B, Oymak O. Pentraxin 3 as a novel bio-marker of inflammation and endothelial dysfunction in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Nephrol*. 2014 Apr;27(2):181-6.
- 12.Takiyama Y, Haneda M. Hypoxia in diabetic kidneys. *Biomed Res Int*. 2014;2014:837421.
13. Koeners MP, Vink EE, Kuijper A, Gadellaa N, Rosenberger C, Mathia S, van den Meiracker AH, Garrelds IM, Blankestijn PJ, Joles JA. Stabilization of hypoxia inducible factor-1 α ameliorates acute renal neurogenic hypertension. *J Hypertens*. 2014 Mar;32(3):587-97.
14. Luo R, Zhang W, Zhao C, Zhang Y, Wu H, Jin J, Zhang W, Grenz A, Eltzschig HK, Tao L, Kellems RE, Xia Y. Elevated Endothelial Hypoxia-Inducible Factor-1 α Contributes to Glomerular Injury and Promotes Hypertensive Chronic Kidney Disease. *Hypertension*. 2015 Jul;66(1):75-84.
15. Belibi F, Zafar I, Ravichandran K, Segvic AB, Jani A, Ljubanovic DG, Edelstein CL. Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and autophagy in polycystic kidney disease (PKD). *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011 May;300(5):F1235-43.
16. Kimura K, Iwano M, Higgins DF, Yamaguchi Y, Nakatani K, Harada K, Kubo A, Akai Y, Rankin EB, Neilson EG, Haase VH, Saito Y. Stable expression of HIF-1 α in tubular epithelial cells promotes interstitial fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008 Oct;295(4):F1023-9.

17. Bernhardt WM, Wiesener MS, Weidemann A, Schmitt R, Weichert W, Lechler P, Campean V, Ong AC, Willam C, Gretz N, Eckardt KU. Involvement of hypoxia-inducible transcription factors in polycystic kidney disease. *Am J Pathol.* 2007 Mar;170(3):830-42.
18. Buchholz B, Schley G, Faria D, Kroening S, Willam C, Schreiber R, Klanke B, Burzlaff N, Jantsch J, Kunzelmann K, Eckardt KU. Hypoxia-inducible factor-1 α causes renal cyst expansion through calcium-activated chloride secretion. *J Am Soc Nephrol.* 2014 Mar;25(3):465-74.
19. Pei Y, Obaji J, Dupuis A, Paterson AD, Magistroni R, Dicks E, Parfrey P, Cramer B, Coto E, Torra R, San Millan JL, Gibson R, Breuning M, Peters D, Ravine D. Unified criteria for ultrasonographic diagnosis of ADPKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009 Jan;20(1):205-12.
20. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al; National Kidney Disease Education Program Laboratory Working Group: Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 2006; 52: 5–18.
21. Devereux RB, Reichek N: Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation* 1977; 55: 613–618.
22. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am CollCardiol* 1993;22: 854–858.
23. Schrier RW, Johnson AM, McFann KK, Chapman AB. The role of parental hypertension in the frequency and age of diagnosis of hypertension in offspring with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2003; 64: 1792-9.
24. Ecker T. Cardiovascular complications in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Curr Hypertens Rev.* 2013 Feb;9(1):2-11.
25. Gabow PA, Johnson AM, Kaehny WD, Kimberling WJ, Lezotte DC, Duley IT, Jones RH. Factors affecting the progression of renal disease in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 1992 May;41(5):1311-9.

26. Gabow PA, Chapman AB, Johnson AM, Tangel DJ, Duley IT, Kaehny WD, Manco-Johnson M, Schrier RW. Renal structure and hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 1990 Dec;38(6):1177-80.
27. Kocyigit I, Yilmaz MI, Unal A, Ozturk F, Eroglu E, Yazici C, Orscelik O, Sipahioglu MH, Tokgoz B, Oymak O. A link between the intrarenal renin angiotensin system and hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2013;38(3):218-25
28. Fine LG, Orphanides C, Norman JT. Progressive renal disease: the chronic hypoxia hypothesis. *Kidney Int Suppl.* 1998 Apr;65:S74-8.
29. Norman JT, Clark IM, Garcia PL. Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts. *Kidney Int.* 2000 Dec;58(6):2351-66.
30. Shoji K, Tanaka T, Nangaku M. Role of hypoxia in progressive chronic kidney disease and implications for therapy. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014 Mar;23(2):161-8.
31. Higgins DF, Kimura K, Iwano M, Haase VH. Hypoxia-inducible factor signaling in the development of tissue fibrosis. *Cell Cycle.* 2008 May 1;7(9):1128-32.
32. Rodríguez-Prados JC, Través PG, Cuenca J, Rico D, Aragonés J, Martín-Sanz P, Cascante M, Boscá L. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. *J Immunol.* 2010 Jul 1;185(1):605-14.
33. Krawczyk CM, Holowka T, Sun J, Blagih J, Amiel E, DeBerardinis RJ, Cross JR, Jung E, Thompson CB, Jones RG, Pearce EJ. Toll-like receptor-induced changes in glycolytic metabolism regulate dendritic cell activation. *Blood.* 2010 Jun 10;115(23):4742-9.
34. Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, Palsson-McDermott EM, McGettrick AF, Goel G, Frezza C, Bernard NJ, Kelly B, Foley NH, Zheng L, Gardet A, Tong Z, Jany SS, Corr SC, Haneklaus M, Caffrey BE, Pierce K, Walmsley S, Beasley FC, Cummins E, Nizet V, Whyte M, Taylor CT, Lin H, Masters SL, Gottlieb E, Kelly VP, Clish C, Auron PE, Xavier RJ,

O'Neill LA. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . Nature. 2013 Apr 11;496(7444):238-42.

Şekil 1. HIF1 α mRNA gen ifadesinin hipertansif ve normatansif ODPBH hastalarıyla karşılaştırılması

Şekil 2. HIF1 α mRNA gen ifadesi değerlerinin hipertansif ODPBH hastalarında ROC analizi

Tablo 1. ODPB hastaları ile kontrol grupları arasındaki demografik ve laboratuvar özelliklerin karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar		<i>p</i>
	ODPBH (<i>n</i> =100)	Kontrol (<i>n</i> =100)	
Yaş (yıl)	45.14 $\pm$ 12.94	42.11 $\pm$ 11.55	0.088
Cinsiyet (erkek) (%)	48	44	0.667
eGFR ^a , ml/min/1.73 m ²	81(46-106)	101 (94-117)	<0.001
BMI (kg/m ²)	26.41 $\pm$ 5.45	25.04 $\pm$ 4.23	0.250
Albumin(g/dl)	4.35 $\pm$ 3.84	3.94 $\pm$ 0.37	0.592
Hemoglobin (g/l)	13.93 $\pm$ 1.7	14.22 $\pm$ 1.57	0.444
Glikoz (mg/dl)	87.5(80-96)	86(80-90)	0.405
Proteinüri (g/day)	0.43(0.1-0.97)	0.13(0.05-0.18)	

			0.018
BUN (mg/dl)	16(13-27)	13(12-17)	0.035
Kalsiyum (mg/dl)	9.36±0.48	9.25±0.42	0.278
Fosfor (mg/dl)	3.35±0.53	3.2±0.49	0.196
Kan <i>HIF-1α</i> mRNA	1.65(1.15-3.29)	0.61(0.35-0.88)	<0.001
İdrar <i>HIF-1α</i> mRNA	0.91(0.38-2.50)	0.88(0.33-1.92)	0.323
<i>IL1-β</i> mRNA	0.82±0.24	0.42±0.11	<0.001
Süksinat (µg/µl)	0.00089±0.00028	0.00054±0.00011	<0.001
Mean BP (mm Hg)			
24 hour	88(84-91)	81(78-82)	<0.001
Daytime	95(91-98)	88(83-90)	<0.001
Nighttime	82(79-85)	77(73-79)	<0.001
PWV(m/sec)	7.45±1.02	6.15±0.53	<0.001
FMD(%)	7.26±1.06	8.98±1.22	<0.001
LVM(g)	147.5±14.9	132.5±9.15	<0.001
Uric acid (mg/dl)	5.75(4.4-7)	4.9(3.8-6.1)	0.011
LDL Cholesterol (mg/dl)	121.29±36.01	119.17±29.98	0.761
Total Cholesterol (mg/dl)	197.66±39.26	185.16±32.35	0.146
Anti-hypertensive medication			
ACEI/ARB	14	-	

CCB	4	-	
Beta blocker	1	-	
Diuretic	2	-	
ACEI/ARB+ CCB	4	-	
ACEI/ARB+Diuretic	6	-	

Değerler, n (%), ortalama $\pm$ standart sapma veya ortanca (1.-3. çeyrekler) olarak ifade edilmiştir.

Tablo 2. Ortalama sistolik basınç olarak tanımlanan, hipertansiyonu olan ve olmayan ODPBH hastaları arasındaki laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması ≥ 130 mm Hg ve / veya ortalama diyastolik basınç ≥ 80 mm Hg

Değişkenler	Hipertansiyon		p
	Yok (n=31)	Var (n=69)	
Yaş (Yıl)	34.21 $\pm$ 11.25	50.02 $\pm$ 10.48	<0.001
Cinsiyet (Erkek) (%)	37.9	49.2	0.879
eGFR ^a , (ml/min/1.73 m ²)	110.7(98.2-117.9)	58.1(30-90.3)	<0.001
BMI (kg/m ²)	23.91 $\pm$ 5.3	27.55 $\pm$ 5.16	0.143
Albumin(g/dl)	4.12 $\pm$ 0.3	4.46 $\pm$ 4.62	0.859
Hemoglobin (g/l)	14.17 $\pm$ 1.28	13.83 $\pm$ 1.86	0.578
Glikoz (mg/dl)	81(78-92)	90(83-99)	0.540
Proteinüri (g/day)	0.20(0.08-0.29)	0.36(0.11-0.57)	0.511

BUN (mg/dl)	13(12-15)	20(14-32)	0.086
Kalsiyum(mg/dl)	9.43±0.41	9.34±0.5	0.227
Fosfor (mg/dl)	3.4±0.57	3.32±0.51	0.885
<i>IL1-β</i> mRNA	0.52±0.10	1.12±0.44	<0.001
Kan HIF-1α mRNA	0.85(0.52-2.16)	1.8(1.27-3.29)	0.010
İdrar HIF-1α mRNA	0.57(0.36-2.58)	1.2(0.43-2.40)	0.210
Süksinat (µg/µl)	0.00073±0,00019	0.00094±0,00037	0.031
Mean BP (mm Hg)			
24 hour	83(81-86)	89(87-94)	<0.001
Gündüz	89(87-92)	96(93-100)	<0.001
Gece	78(76-80)	84(81-89)	<0.001
Ürik asit (mg/dl)	4.5(3,9-5,6)	6.4(5,2-7,8)	0.005
LDL Kolesterol (mg/dl)	115.25±37.87	124.08±35.08	0.955
Toplam Kolesterol (mg/dl)	188.09±43.66	202.07±36.59	0.776

Değerler, n (%), ortalama ± standart sapma veya ortanca (1.-3. çeyrekler) olarak ifade edilmiştir.

Tablo 3. ODPBH hastalarında kan HIF-1 α mRNA düzeylerinin göre laboratuvar ve demografik özelliklerin karşılaştırılması

Değişkenler	Kan HIF-1 α mRNA			<i>p</i>
	Düşük ifade (<0.52) (n=33)	Orta düzey ifade (0.52-1.0) (n=34)	Yüksek ifade (>1.0) (n=33)	
Yaş (yıl)	47.13 $\pm$ 11.41	45.34 $\pm$ 13.68	42.94 $\pm$ 13.66	0.445
Cinsiyet (erkek) (%)	13(41.9)	14(43.8)	16(51.6)	0.718
Mean BP (mm Hg)				
24 hour	85(81-88) ^a	88(85-90) ^b	93(88-100) ^c	<0.001
Gündüz	91(88-93) ^a	94(92-96) ^b	100(94-107) ^c	<0.001
Gece	80(76-82) ^a	82(79.5-85) ^b	87(81-95) ^c	<0.001
eGFR ^a , (ml/min/1.73 m ²)	72.5(48-108)	91(41-111)	73.5(26-95.5)	0.255
BMI (kg/m ²)	27.76 $\pm$ 6.08	26.06 $\pm$ 4.84	25.23 $\pm$ 5.11	0.184
Albumin(g/dl)	3.92 $\pm$ 0.50	4.1 $\pm$ 0.55	4.2 $\pm$ 0.37	0.387
Hemoglobin (g/l)	13.8 $\pm$ 1.5	13.4 $\pm$ 1.8	12.04 $\pm$ 1.9	0.920
Glikoz (mg/dl)	86(79-96)	91(85-98)	83(78-96)	0.108
Proteinüri (g/day)	0.14(0.09-0.21) ^a	0.16(0.10-0.25) ^{ab}	0.34(0.11-0.74) ^b	0.038
BUN (mg/dl)	17(13-26)	16(12-28)	18(13-30)	0.465
	9.39 $\pm$ 0.43	9.32 $\pm$ 0.53		

Kalsiyum (mg/dl)			9.38±0.47	0.842
Fosfor (mg/dl)	3.22±0.58	3.39±0.49	3.53±0.50	0.259
<i>IL1-β</i> mRNA	0.52±0.11	0.79±0.19	1.09±0.29	0.018
Süksinat (μg/μl)	0.00077±0.00022	0.00084±0.00034	0.00104±0.00041	0.029
PWV(m/sec)	7.26±0.94	7.35±0.91	7.75±1.30	0.138
FMD(%)	7.27±1.11 ^{ab}	7.61±0.90 ^a	6.88±1.06 ^b	0.021
LVM(g)	144.87±13.39	147.07±15.79	149.94±16.85	0.543
Uric acid (mg/dl)	5.9(4.6-6.6)	5.55(4-7.1)	5.9(4.7-7.9)	0.587
LDL Cholesterol (mg/dl)	128.6±33.8	118.6±30.6	116.7±42.8	0.396
Total Cholesterol (mg/dl)	207.2±38.8	193±33.6	192±44.4	0.270

p^{*}: yaşa göre ayarlanmış anlamlılık değeri. Değerler, n (%), ortalama ± standart sapma veya ortanca (1.-3. çeyrekler) olarak ifade edilmiştir.

Table 4-Kan / idrar HIF 1- α ve seçilen değişkenler arasındaki korelasyon analizi

Variable	Age (years)	BMI(kg/m²)	Serum <i>HIF-1α</i> mRNA	Urine <i>HIF-1α</i> mRNA	PWV(m/sec)	LVM(g)	FMD(%)	eGFR (ml/min/1.73 m²)	BUN(mg/ dL)
Yaş (yıl)	1.000	0.145*	-0.052	0.098	0.156*	0.182*	-0.351**	-0.387**	0.241**
BMI (kg/m ²)	-	1.000	-0.084	-0.015	0.147*	0.113	-0.200**	-0.119	0.279**
Kan <i>HIF-1α</i> expression	-	-	1.000	0.094	0.271**	0.270**	-0.259**	-0.282**	0.097
İdrar <i>HIF-1α</i> expression	-	-	-	1.000	0.130	0.094	-0.063	-0.127	0.102
PWV	-	-	-	-	1.000	0.443**	-0.497**	-0.542**	0.323**
LVM(g)	-	-	-	-	-	1.000	-0.343**	-0.454**	0.287**
FMD(%)	-	-	-	-	-	-	1.000	0.604**	-0.389**
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	-	-	-	-	-	-	-	1.000	-0.293**
BUN(mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000

*p<0.05; **p<0.01.

Tablo 5. 100 ODPBH hastasında olduğu gibi, hipertansiyonu öngören tek değişkenli ve çoklu lojistik regresyon modelleri.

Değişkenler	Univariate Crude OR(95% CI)	Multiple OR(95% CI)
Yaş (yıl)	1.14(1.08-1.21)	1.10(1.02-1.19)
Cinsiyet (erkek)	ns	-
Kan <i>HIF-1α</i> mRNA	1.60(1.09-2.36)	1.73(0.99-3.22)
İdrar <i>HIF-1α</i> mRNA	ns	-
eGFR(ml/min/1.73 m ²)	0.93(0.90-0.96)	1.03(0.93-1.14)
Kalsiyum (mg/dl)	ns	-
<i>IL1-β</i> mRNA	1.11(1.08-1.18)	1.07(1.06-1.13)
Fosfor (mg/dl)	ns	-
Albumin(g/dl)	ns	-
Ürik asit (mg/dl)	ns	-
LDL Kolesterol (mg/dl)	ns	-
Toplam Kolesterol (mg/dl)	ns	-
Glikoz (mg/dl)	ns	-
Proteinüri (g/day)	ns	-

[†]: yaşa göre ayarlandı. [‡]: ya da ilişkili değişkenler 10 birim artışa göre hesaplandı.