



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ROMATİZMAL KARDİTLİ ÇOCUKLARDA MİKRORNA
PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Gökhan GÜMÜŞ
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU KILINÇ

MERSİN - 2016



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ROMATİZMAL KARDİTLİ ÇOCUKLARDA MİKRORNA
PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Gökhan GÜMÜŞ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU KILINÇ**

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2015-1TP31251 proje numarası ile desteklenmiştir.

MERSİN - 2016

TEŐEKKÜR

Tezimin planlanmasından tamamlanmasına kadar tüm aşamalarında büyük desteğini ve yardımını gördüğüm, aynı zamanda tez danışmanım olan Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU KILINÇ' a,

Eğitimim süresince bana emeği geçen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine,

Tezimde yardımları olan Prof. Dr. Lülüfer TAMER ve AraŐ. Gör. Dr. Onur BOBUŐOĞLU'na,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışma olanağı bulduğum tüm uzman, asistan ve intörn arkadaşlarıma,

Tezimde emeği geçen herkese,

Her zaman yanımda olan aileme çok teŐekkür ederim.

Dr. Gökhan GÜMÜŞ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ ve AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	8
Akut Romatizmal Ateş	8
Tarihçe	8
Epidemiyoloji	10
Patogenez	10
Etiyoloji	12
Duyarlı konak	14
Doku/ organ hasarlanması	15
Patoloji	16
Klinik belirti ve bulgular	17
Majör kriterler	18
Artrit	18
Kardit	19
Kronik romatizmal kalp hastalığı	21
Sağ kalp tutulumu	23
Sydenham koresi	23
Eritema marginatum	24
Subkutan nodül	24
Minör kriterler	25
Ateş	25
Artralji	25
PR uzaması	26
Artmış akut faz reaktanları	26
Destekleyici bulgular	27
Geçirilmiş streptokok enfeksiyonunun gösterilmesi	27

Ekokardiyografi	28
Ayırıcı tanı	28
Klinik seyir ve prognoz	29
Komplikasyonlar	30
Tedavi	30
Antimikrobiyal tedavi	31
Anti-inflamatuvar tedavi	33
Destekleyici tedavi	34
Fizik aktivitenin düzenlenmesi	34
Kalp yetersizliği tedavisi	35
Kore tedavisi	36
Cerrahi ve kateter tedavisi	36
Endokardit profilaksisi	37
MikroRNA' lar	37
MiRNA' ların Yapısı ve Keşfi	38
MiRNA'ların Oluşumu	39
MiRNA'ların Fonksiyonu	41
Kardiyak fibrozis ve miRNA	43
Anjiogenez-Vasküler Hastalıklar ve miRNA	45
Konjenital Kalp Hastalığı ve miRNA	46
Kardiyometabolik kümeler ve miRNA	48
Kalp Yetmezliği ve miRNA	50
Miyokardit ve Kardiyomiyopatide miRNA	52
Hipertrofik-Dilate kardiyomiyopatide miRNA	53
Aritmi ve miRNA	54
Romatizmal hastalıklar ve miRNA	55
Akut Miyokard İnfarktüsü ve miRNA	56
Koroner Arter Hastalığı ve miRNA	57
Esansiyel Hipertansiyon ve miRNA	58

GEREÇ ve YÖNTEM	59
BULGULAR	70
TARTIŞMA	78
SONUÇ ve ÖNERİLER	84
KAYNAKLAR	85
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	118
ŞEKİLLER DİZİNİ	119
TABLolar DİZİNİ	120



ÖZET

Çocuklarda kardiyovasküler hastalıklar önemli bir halk sağlığı problemini oluşturmaktadır. Ciddi morbidite ve mortalite nedeni olan kardit ilerleyici ve kalıcı kapak lezyonları ile karakterize kronik Romatizmal kalp hastalığı (RKH)'na yol açar ve hayat kalitesini düşürür. Çocukluk çağı kazanılmış kalp hastalıklarının en sık ve en önemli nedenini oluşturan Akut romatizmal ateş (ARA) hastalarında kalp tutulumu yaklaşık olarak olguların yarısında izlenmektedir. Araştırmacıların temel hedeflerinden biri, bu hastalıkların nedenlerini belirleyerek tedavi ve önleyici protokoller geliştirme yolunda adım atmaktır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda; kalp gelişimi, fonksiyonları ve hastalıklarında rolü olduğu saptanan birçok farklı mikroRNA (miRNA)'lar olduğu bildirilmiştir. Kardiyovasküler hastalıklarda da miRNA bazlı araştırmalar daha çok hastalığa yatkınlık ve altta yatan patogenezi anlamaya yöneliktir. İleri dönemlerde bu tür araştırmalar sayesinde belki de normal kardiyak gelişim sağlanarak çeşitli hastalıklar önlenebilecektir. Bugüne kadar romatizmal kardit hastalarında miRNA düzeylerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda romatizmal karditli çocuklarda miRNA profili araştırılmıştır.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kardiyoloji polikliniğinde izlenen romatizmal kardit tanılı 36 hasta çocuk (hasta grubu;17 erkek ve 19 kız) ve sağlıklı 35 çocuk (kontrol grubu;19 erkek ve 16 kız) olmak üzere toplam 71 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol grubunda bazı miRNA'ların (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-223-3p, hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-92a-3p, hsa-miR-320a, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-132-3p, hsa-miR-146a-5p, hsa-miR-499a-5p, hsa-miR-1, hsa-miR-125b, hsa-miR-196a-5p, hsa-miR-130b-3p, hsa-miR-133b, hsa-miR150-5p, hsa-miR-204-5p ve hsa-miR-203a) ekspresyon düzeylerine bakılmıştır.

Hasta grubunda kontrol grubuna göre hsa-miR-16-5p, hsa-mir-223-3p ve hsa-mir-92a-3p'nin ekspresyon düzeylerinde azalma meydana gelmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmada üç miRNA romatizmal karditte koruyucu olarak saptansa da daha ileri ve geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: mikroRNA, romatizmal kardit, kapak tutulumu

ABSTRACT

Investigation of microRNA profile in children with rheumatic carditis

The cardiovascular diseases in children is an important public health problem. The carditis causes significant morbidity and mortality, it leads to chronic rheumatic heart disease characterized by progressive and permanent valvular lesions and reduces quality of life. Cardiac involvement is observed in approximately half in patients with acute rheumatic fever that constitute the most common and most important cause of acquired heart disease in childhood. One of the main objectives of researchers is identifying the causes of this disease and is taking a step toward developing treatments and preventive protocols.

In studies conducted in recent years; many different microRNAs has been reported to be involved in the development, functions and diseases of the heart. miRNA-based researchs in cardiovascular diseases were focused to understand the underlying pathogenesis and susceptibility to disease. Various diseases may be prevent by providing normal cardiac development with this kind of research in future . So far, there are no studies examining the miRNA levels in patients with rheumatic carditis. In our study, miRNA profiles were investigated in children.with rheumatic carditis.

A total of 71 subjects were included in the study: 36 patients with a diagnosis of rheumatic carditis (patient group, 17 males and 19 females) who were followed in pediatric cardiology clinic in Mersin University School of Medicine, and 35 healthy children (control group, 19 boys and 16 girls). The expression levels of certain miRNAs were analyzed in both of patient and control groups: hsa-miR-16-5p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-223-3p, hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-92a-3p, hsa-m-320, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-132-3p, hsa-miR-146a-5p, hsa-miR-499-5p, hsa-miR-1 , hsa-miR-125b, hsa-miR-196 in-5p, hsa-miR-130b-3p, hsa-miR-133b, hsa-mir150-5p, hsa-miR-204-5p and hsa-miR-203.

A significant decrease detected in the expression of hsa-miR-16-5p, hsa-miR-223-3p, and hsa-miR-92a-3p levels in the patients group compared to control group ($p < 0.05$). In conclusion, this study found that these three miRNA are protective. However, further and larger studies are needed.

Keywords: microRNA, rheumatic carditis, valve involvement

GİRİŞ ve AMAÇ

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kardiyovasküler hastalıklar her gün 2.300 can almaktadır. Ortalama 39 saniyede bir ölüm anlamına gelen bu tabloda; sağlık sistemleri üzerindeki yükün %17'sini yine kardiyovasküler hastalıklar oluşturmaktadır.¹ Bu kalp hastalıklarının birçoğu çocukluk çağında meydana gelmektedir. Bu nedenle erken tanı ve zamanında tedavi, son derece önemlidir. Hem genç hem yaşlı toplumlarda, konjenital kalp defektlerinin prevalansını önleme yönündeki çabalar son derece kritiktir. Bütün bunların gerçekleştirilebilmesi için, hastalığın altta yatan mekanizmalarının anlaşılması ve bu sayede yeni tedavi modalitelerinin geliştirilebilmesi gerekmektedir. ARA ve sonucunda oluşan RKH gelişmiş ülkelerde ender görülen bir hastalık olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde çocuklar ve erişkinler için önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.

MikroRNA'ların keşfedilmesi ile birlikte, hastalık mekanizmalarının anlaşılması konusunda yeni gelişmeler sağlanmıştır. Bu küçük, kodlanmayan RNA molekülleri; hedef messenger RNA (mRNA)'ların stabilitesini ve/veya translasyonel etkinliğini düzenleyebilmektedir.² MiRNA'lar ilk olarak 1993 yılında keşfedilmiş, o günden bu yana memelilerde 1400'den fazla miRNA tespit edilmiştir ve bu sayede gen regülasyonunun anlaşılması konusunda devrim niteliğinde gelişmeler sağlanmıştır.³ MiRNA'lar post-transkripsiyonel düzenleme konusunda tamamen yeni bir aşama getirmekte ve memelilerde protein kodlayan tüm genlerin yarısından fazlasının aktivitesini etkilediği düşünülmektedir.^{4,5} MiRNA'ların sadece kalp ve damar gelişimi için değil, normal kardiyak fonksiyonların sağlanması için de çok önemli oldukları düşünülmektedir. Bu moleküller, kardiyak patofizyolojide hipertrofi, aritmi, iskemi gibi süreçlerde önemli roller oynamaktadır.⁶ Birçok kardiyovasküler hastalıkta miRNA'ların disregüle olduğu gösterilmiştir ve bu bağlamda pediatrik kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde miRNA ekspresyonunun önemli rol üstlendiği gösterilmiştir.

Birçok kalp hastalığı ve romatizmal hastalıkta miRNA düzeyleri araştırılmış olmakla birlikte romatizmal kardit hastalarında miRNA düzeylerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı romatizmal karditi olan hastalarda miRNA ekspresyon değişiminin belirlenmesidir.

GENEL BİLGİLER

Akut Romatizmal Ateş

Akut romatizmal ateş (ARA), grup A beta-hemolitik streptokoklar (GABHS) tarafından oluşturulan farenjit, tonsillofarenjit veya kızıl sonrası 1-5 haftalık bir latent dönemin ardından streptokok antijenlerine karşı oluşan antikorların antijenik benzerlik nedeniyle farklı dokulara bağlanarak hasar vermesi ile karakterize morbiditesi yüksek, multisistemik bir bağ dokusu hastalığıdır.⁷ Genellikle subakut veya kronik seyir gösteren bu hastalık; daha çok eklemleri ve kalbi tutarken; merkezi sinir sistemi, deri, deri altı dokusu, seröz yüzeylerde de tutulum yapabilmektedir. Merkezi sinir sistemi, deri ve eklem tutulumunda kendini sınırlayan bir seyir gözlenirken kalp tutulumu kalıcı hasara neden olabilmektedir.⁸ Kalp dışındaki diğer organ tutulumları sekelsiz olarak iyileşmesine karşın hastalığı ileri derecede önemli kılan nokta akut kalp yetersizliği ve kronik kapak hastalığına neden olabilen karditin olaya eşlik etmesidir.⁹ Ciddi morbidite veya mortalite nedeni olan kardit ilerleyici ve kalıcı kapak lezyonları ile karakterize kronik romatizmal kalp hastalığı (RKH)'na yol açar ve hayat kalitesini düşürür.^{9,10} Çocukluk çağı kazanılmış kalp hastalıklarının en sık ve en önemli nedenini oluşturan ARA'da kalp tutulumu yaklaşık olarak olguların yarısında izlenen bir durumdur.^{7,8} ARA ve sonucunda oluşan RKH gelişmiş ülkelerde ender görülen bir hastalık olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde çocuklar ve erişkinler için önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.¹¹

Tarihçe

Hastalık yüzyıllardır bilinmektedir. Tarihte romatizma artriti terimini 1500'lü yıllarda ilk kez kullanan kişi Guillaume de Baillou'dur. Thomas Sydenham 1686 yılında Sydenham koresini tanımlarken, boğaz enfeksiyonu ve ARA arasındaki ilişki ise ilk kez Cheadle tarafından 1889 yılında bildirilmiştir. Streptokokların hastalığındaki rolüne ve ARA'nın proliferatif ve non-süpüratif karakterine 1900'lü yılların başlarında dikkat çekilmiştir.^{11,12} Lancini valvuler vejetasyonları keşfederek 1707 yılında otopsi bulguları halinde yayınlamıştır.^{11,12} See tarafından korenin romatizma ve kalp hastalığı ile ilişkisi 19. Yüzyıl ortalarına doğru belirtilmiştir.^{11,12}

Subkutan nodullerin tarifi 1812'de ilk olarak Wellin tebliğinde rapor edilmiştir ve 1875 yılında Mavret tarafından etraflı olarak değerlendirilmiştir.¹³ Cheadle endokardit, plörezi, kore, perikardit, eksudatif eritem, subkutan nodül ve tonsillit gibi romatizmanın değişik ve farklı belirtilerini ele alarak, bunları bir semptom olarak toplamıştır. Cheadle'in bu anlayışı, daha sonra T.Ducket Jones tarafından ARA tanısı için kabul edilen major ve minor kriterlerden farklı değildir.¹³

West ve Goodhart çalışmalarında romatizmanın seyrinde miyokard tutulumu olduğunu ilk kez 1879 yılında ortaya koymuşlardır. Ludwig Aschoff kendi adını verdiği nodülleri 1904'de tarif etmiş, daha sonra da Kehl ve Romberg gibi Alman patologlar kalp yetmezliğinin valvüler lezyonlardan ziyade miyokarddan kaynaklandığını desteklemiştir. Thelheimer ve Rothschild ise Aschoff nodüllerinin ARA tanısı için karakteristik olduğunu belirtmişlerdir.¹³

Lancefield'in çalışmaları ile 1930 yılında streptokokların subgrupları belirlenmiştir. Penisilin 1940 yılında bulunması ile ARA'dan etkili olarak korunma başlamıştır. Daha sonraları ABD' de dönemsel epidemik artışlarda ve Fransa'daki sporadik olgularda streptokoklara ait spesifik romatojenik tipler belirlenmiştir.¹¹

İkinci dünya savaşından sonra Hindistan ve diğer gelişmekte olan ülkelerde ARA prevalansı giderek artmıştır. ABD' de antibiyotiklerin zor elde edilebildiği 1950'li yıllarda 15.000 insanın ARA sebebiyle öldüğü bilinmektedir.¹⁴⁻¹⁶ ABD ve İngiltere'de ACTH, kortizon ve salisilatların ARA'nın tedavisinde kullanılması ile bu hastalıktan ölüm oranında göreceli bir düzelme sağlanmıştır.¹⁵

Akut romatizmal ateş tanısında kullanılan kriterler ilk kez 1944 yılında T. Duckett Jones tarafından ortaya konulmuştur. Bu kriterler 1955 yılında değişikliğe uğramış ve son olarak 1992 yılında Amerikan Kalp Derneği tarafından, 2002-2003 yıllarında da Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından son şekli verilmiştir.¹⁷ Son 60 yıl içerisinde ABD ve Batı Avrupa'da ARA insidansında belirgin bir azalma görülmüş ise de gelişmekte olan ülkelerde halen önemli bir sorundur.¹⁸

Epidemiyoloji

Akut romatizmal ateş atağından önce, bu atağı tetikleyen iyi tedavi edilmemiş AGBHS farenjit enfeksiyonu vardır. Akut farenjitin etkin bir şekilde tedavi edilmesi bu riski ortadan kaldırır. Epidemiyolojik çalışmalarda, tedavi edilmemiş streptokok farenjitinin ardından ARA (ilk atak) insidansı %2-3 olarak bulunmuştur. İlk ataktan sonra yeni atak geçirme olasılığı %50'dir. ARA olgularının üçte biri asemptomatik farenjiti izleyerek oluşabilmektedir.¹⁸ Farenjit dışındaki AGBHS enfeksiyonlarında ARA gelişmez. Bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir ancak bölgesel tutulumdaki suş farklılıkları ile açıklanmaya çalışılmaktadır.¹⁹⁻²¹

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2005 verilerine göre dünyada 15.6 milyon RKH'nın bulunduğu, her yıl 500.000 yeni ARA hastasının 300.000'inde RKH geliştiği, yıllık 223.000 kişinin de ARA veya RKH nedeniyle öldüğü bildirilmektedir.²² Ülkemizde İmamoğlu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada düşük sosyoekonomik gruptaki okul çocuklarında RKH sıklığı 10.7/1000 iken yüksek sosyoekonomik grupta bu oran 2.2/1000 olarak bulunmuştur.²⁴ Birçok gelişmiş ülkede sosyoekonomik düzeyin iyileşmesi ve penisilin kullanımının artması ile RKH sıklığı 0.2-0.5/100.000'e kadar gerilemiştir.²³

Hastalık genellikle 5-15 yaş arasındaki çocuklarda sık görülmekle birlikte ilk atağın olguların %5'inde 5 yaş altında,²⁴ çok nadiren 2 yaş altında²⁵ ve bazen de 35 yaş üstünde olabileceği bildirilmektedir. Kalabalık ortamda yaşayanlar, askeri okul öğrencileri, öğrenci yurtlarında kalanlar ve çocuklu aileler yüksek risk grubunda yer almaktadırlar. Kız/erkek tutulum oranı eşittir.¹⁸ ARA, streptokok enfeksiyonlarının daha çok olduğu kış ve ilkbahar aylarında sık görülür yani mevsimsel insidans streptokoksik farenjitin sıklığı ile direkt olarak ilişkilidir.²⁶

Patogenez

A Grubu B-Hemolitik streptokoklar insanlar için patojen olup, hayvanlarda nadiren enfeksiyon yaparlar. Bu nedenle hayvan deneylerinin yapılması sınırlıdır ve ARA patogenezini araştırmada sorun olmaktadır. Ancak çeşitli tekniklerle hayvanlara dışarıdan verilen streptokok antijenleriyle ARA'dakine benzer lezyonların

oluşturulduğu çalışmalar mevcuttur.²⁷ Hastalığın patogenezi bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak aşağıdaki faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir:

Etyolojik etken: AGBHS romatojenik suşlarının (M 1, 3, 5, 6, 18, 19, 24) oluşturduğu üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra bildirilmektedir.

Duyarlı konak: Bazı HLA antijenine sahip bireylerde (HLA DR-2, 4, 3, 7, 10, HLA DR-W 53) ARA daha yüksek oranlarda görülmektedir.

Doku/organ hasarı: En çok üzerinde durulan teori, otoimmünite yani çapraz reaksiyon kuramıdır. Bazı streptokok antijenlerinin doku antijenleri ile benzerlik göstermesi (*antigenic mimicry*) sonucu hücresel ve humoral bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla klinik bulguların ortaya çıktığı düşünülmektedir.^{28,29} Bu immünolojik görüşü destekleyen kanıtlar şunlardır:

-A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonu ile ARA'nın klinik bulgularının ortaya çıkışı arasında latent bir dönem olması,

-Akut romatizmal ateşli hastaların serumlarında sitokin, nitrit ve adrenomedüllin düzeylerinde artış olması,³⁰

-Kalp dokusunda lenfosit birikimi, adezyon moleküllerinin aşırı ekspresyonu ve kompleman birikimi görülmesi,³¹

-Antikor yapımı zayıf olan infantlarda ARA'nın görülmemesidir.

Akut romatizmal ateşli bazı hastaların serumlarında, kalp dokusuna karşı oluşan otoantikolar olduğu bilinmektedir. Bu otoantikoların kalp dokusuna bağlanması büyük miktarlarda C3 birikimi ile birlikte olmaktadır. Ancak immün kompleks hastalıklarında görülen otoantikoların (RF, anti-DNA) yüksekliği ARA'da görülmez. Serum Ig A ve Ig G düzeyleri artmıştır, bu da humoral immüitenin aktive olduğunu göstermektedir.³² Kalp dokusu dışında, streptokokların hücre membranları ile sublamik ve kaudat nükleuslar arasında da moleküler benzerlik vardır. ARA'nın sistemik organ tutulumu, bu immünolojik benzerlikler ile açıklanmaktadır.³³



Şekil 1:ARA patogenezi³³

Akut romatizmal ateş patogenezinde virüslerin de rol oynadığı, zaman zaman ileri sürülmüştür. Li ve ark.'ları³⁴ ameliyat edilen hastaların miyokard dokularında PCR ile Herpes simplex virüs DNA'sını elde etmişlerdir. Ancak bunun önemi bilinmemektedir.

Etiyoloji

Akut romatizmal ateşin, AGBHS'un romatojenik suşlarının oluşturduğu üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra geliştiği bilinmektedir.^{26,33} Her ne kadar grup C ve G streptokoklar da farenjite neden olsalar da, sadece grup A streptokokların sebep olduğu üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra gelişen immün cevap ARA'ya yol açar. AGBHS'ların M 1,3,5,6,18,19,24 serotipleri sorumlu tutulmuştur.³⁵ Bunlardan en yaygın görüleni de M 5'tir.

Streptokok hücre zarında bulunan ve lipoteikoik asit içeren M proteini, streptokokların antifagositik özelliğinden sorumlu olup, en önemli virülans faktörüdür. Grup A beta hemolitik streptokokların tipini belirler. Grup A streptokokların M antijenlerine göre 80'den fazla serotipi belirlenmiştir.^{36,37} M antijenlerinin fazlalığından dolayı, günümüze kadar streptokoklara yönelik etkili bir aşı geliştirilememiştir. Ayrıca

M proteini memelilerdeki tropomyozine fizikokimyasal olarak benzerlik göstermektedir.³⁸ Bununla ilgili bir çalışmada, rekombinant olarak üretilen streptokokal M proteini, farelere verildiğinde, yarısının valvulit ve miyokardit geliştirdikleri görülmüştür. Bu bulgular da M proteininin kalp kapakçıkları ile çapraz reaksiyon vererek hasara sebep olduğuna delil olarak gösterilmiştir.^{27,39}

Streptokokların lipoprotein yapısındaki sitoplazmik membranı, birçok memeli türünün bazı dokuları ile çapraz reaksiyon gösterir (örneğin glomerül bazal membranı ve sarkolemmal antijen). Hücre duvarının yapısında bulunan peptidoglikanın artrit gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir.³⁵ ARA'lı hastaların serumlarında kalp kası, iskelet kası ve düz kaslara, bazal gangliondaki nöronlara, fibroblastlara, timus ve lenfositlere karşı otoantikolar saptanmıştır.⁴⁰ Streptokoklar, inflamasyona neden olarak, ekzotoksin üreterek veya immunolojik mekanizma ile hastalık yapabilirler.³⁷ İnflamasyona sebep olan enzimler; streptokinaz (fibrinolizin), DNAase (streptodornaz) ve hyalüronidazdır. Streptokinaz, plazminojeni plazmine aktive eder ve fibrini yıkar. DNAase, eksuda veya nekrotik dokudaki DNA'yı depolimerize eder. DNAase'a karşı oluşan antikolar tanı amaçlı kullanılabilir. Hiyalüronidaz, bağ dokusunun temel yapı maddelerinden olan hiyalüronik asidi parçalar. *S. pyogenes*'in sellülit gibi deri infeksiyonlarında hızla yayılmasını sağlayan enzimi hiyalüronidazdır. Streptokokların ürettiği ekzotoksin ve hemoliziner ise şunlardır: eritrojenik toksin, streptolizin O, streptolizin S, pirojenik ekzotoksin A ve B. Eritrojenik toksin, *S. Aureus*'un toksik şok sendrom toksinine benzer, süperantijen gibi hareket eder ve kızılın döküntüsünden sorumlu toksindir. Streptolizin O, oksidasyon ile inaktive olan (*oxygen-labile*) bir hemolizindir ve kanlı agar besiyerindeki beta hemolizden sorumludur. Antijenik özelliği vardır. Streptolizin O'ya karşı gelişen antikor (ASO) titresi ARA tanısında önemlidir. Streptolizin S, oksijen ile inaktive olmayan (*oxygen-stable*) bir hemolizindir ve kanlı agarda beta hemolizden sorumlu olup, antijenik özelliği yoktur. Pirojenik ekzotoksin A, stafilokokal toksik şok sendrom toksinine benzeyen bir süperantijen olup fazla miktarda sitokin salımına neden olur. Ekzotoksin B, hızlı hücre yıkımına sebep olan bir proteazdır ve nekrotizan fasiit yapan *S. pyogenes* suşları tarafından salgılanır.

Tablo 1: Streptokokların ürettiği enzim, toksin ve hemolizinler.³⁷

Toksin ve hemolizinler	Enflamasyon ile ilişkili enzimler
Eritrojenik toksin	Streptokinaz (fibrinolizin)
Streptolizin O	DNaz (streptodornaz)
Streptolizin S	Hiyalüronidaz
Pirojenik ekzotoksin A	
Ekzotoksin B	

Duyarlı Konak

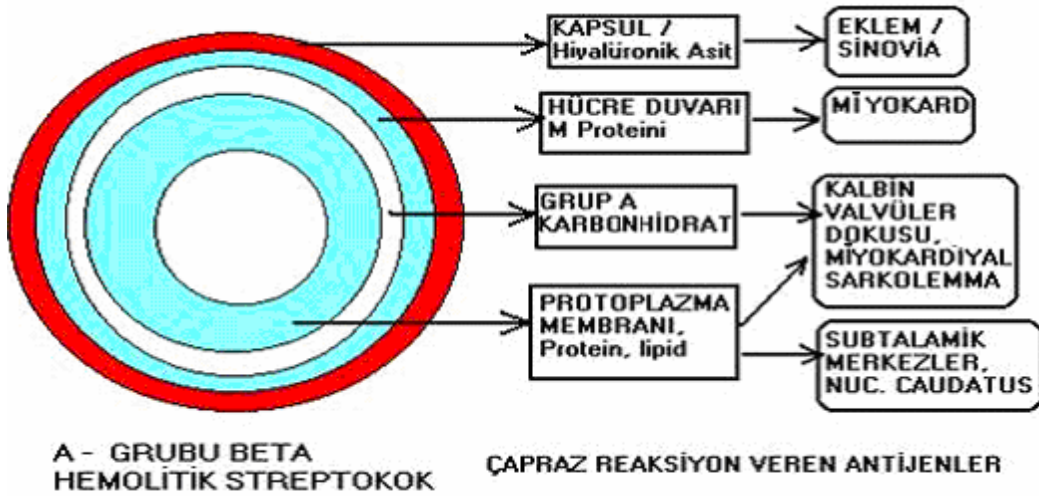
Klinik çalışmalar, bu hastalığın ailesel yatkınlık gösterdiğini ve ARA'ya duyarlı genetik faktörlerin var olduğunu düşündürmektedir. Bu yatkınlığın tek çekinik gen aracılığıyla oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda, ARA'daki genetik temel duyarlanma ile ilgili deliller toplanmaya başlanmıştır ve bu konuda bir fikir birliği oluşturulmuştur. İnsan lenfositlerinin incelenerek özgün B hücre alloantijenlerinin varlığı gösterilmiştir. ARA'lı hastaların %99'unda, kontrol grubunun ise sadece %14'ünde özgün monoklonal antikolar tanımlanmıştır.⁴¹ Bu özgün monoklonal antikolar ve özgün lenfosit yüzey antijenleri, duyarlı konakçıyı gösteren bir belirteç olarak kabul görmektedir (özellikle kalp tutulumu olanlarda %75-90 oranında saptanmıştır). Ayrıca ARA'dan şüphe edilen durumlarda ayırıcı tanıdaki önemi son dönem çalışmalarda vurgulanmaktadır.^{18,42,43} Monoklonal antikoların (D8/I7 ve PG1/MNII gibi) etnik gruplardaki farklı ARA/RKH insidanslarının tanımlanmasında yararlı olduğu gösterilmiştir.⁴² D8/I7 B hücre alloantijen yüzdesi ABD'de çok yüksek iken, Hindistanda ARA'lı hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda bu oran yüksek düzeyde bulunmamıştır.

Streptokok antijenleri ile HLA antijenleri arasındaki ilişki, bu hastalıktaki genetik duyarlanmayı desteklemektedir. Bazı çalışmalarda, ARA'da streptokok antijenine karşı immün hiperreaktivite olduğunda öne sürülmektedir. Bu aşırı yanıt verme ile ilgili bulgular tam olarak açık değildir. Sadece Dudding ve Ayoubin'in çalışmasında; romatizmal valvüler hastalıklı kişilerde grup A streptokokal karbonhidrata karşı aşırı yanıt ile ilgili bulgular elde edilmiştir.⁴² Ayoubin ve ark. HLA

DR2 ile siyah ırk ve HLA DR4 ile beyaz ırk arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Türkiye ve Utah'da da benzer HLA tipleri ile ilişkili çalışmalar vardır. Brezilya'da DR7 ve DW53, Özbeklerde HLA-B17 ve HLA-B21 arasında kombine ilişki de saptanmıştır. Hayvan deneyleri ile de ispatlanmıştır ki, bu antijene karşı verilen immün yanıtın yönetimi genetik kontrol altında olmaktadır. İmmün yanıtın modülasyonunda HLA molekülünün rolü oldukça önemlidir.^{18,44}

Doku/Organ Hasarlanması

Akut romatizmal ateş hastalarında üç hafta kadar süren latent periyodun varlığı, doku zedelenmesinin immün aracılı olabileceğini destekler. İlk kez Kaplan ve ark.¹⁸ tarafından miyokard dokusu ile grup A streptokok componentleri arasında ortak bir antijenik determinant tanımlanmıştır. Streptokok enfeksiyonu esnasında oluşan antikolar, konakçı doku ile çarpaz reaksiyona girer. Bu çarpaz reaksiyonlar Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: AGBHS'un hücre duvarının şematik görünümü ve çarpaz reaksiyon veren yapılar⁴²

Birkaç çalışmada da M-proteini ile miyokardiyal sarkolemma ve kardiyak miyozin proteini arasında immünolojik reaksiyon tanımlanmıştır. Ayrıca benzer çapraz reaksiyon, protoplast membran antijeni ile miyokardiyal sarkolemmal membran arasında da gösterilmiştir. Saptanan diğer reaksiyonlar; streptokok karbonhidrat ve valvüler glikoprotein arasında, streptokok protoplast membran ile subtalamik nöronal doku ve kaudat nükleus arasında, kapsüldeki hiyalüronat ile eklem kartilajı arasındaki çapraz reaksiyonlardır.

Çoklu immünolojik çapraz reaksiyon ile birden fazla organ tutulumu izah edilebilir. Doku zedelenmesinde diğer bir alternatif mekanizma ise hücre aracılı sitotoksitedir. İnsan miyokardiyal hücre kültüründe ARA'lı hastalardaki periferik kan lenfositleri sitotoksiktir. ARA'nın patogeneğinde hem hümoral hem de hücrel immün reaksiyonlar rol alır. Akut atak sırasında hümoral faz daha baskındır. İlk haftada kendini gösterir ve birkaç ay içinde normale döner. Akut atakta kalbin tüm katları tutulur. Akut atağın hemen başında ve kronik faza geçişte ise hücrel faz ön plandadır. Hücrel yanıt erken dönemde görülür ve miyokardiyal Aschoff nodülünün yapımında görev alır. Ayrıca ARA'nın patogeneğinde çok sayıda inflamatuvar sitokin yer aldığı bilinmektedir. En fazla yer alan sitokinler; interlökin-1 α (IL-1 α), interlökin-1 β (IL1 β), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekrotizan faktördür. ARA'lı hastalarda tedavi öncesinde bu sitokinlerin yüksek olduğu ve tedavi sonrasında normal düzeylerde olduğu gösterilmiştir. Ayrıca karditli olgularda interlökin-8 düzeyleri diğer sitokinlerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.⁴⁵ CD4/CD8 oranında artış saptanmıştır.^{11,18}

Patoloji

Bütün immünolojik olaylar dizisi, etkilenen organlardaki bağ dokusu içerisinde eksudatif ve proliferatif enflamatuvar reaksiyonlara yol açarak ARA ile sonuçlanmaktadır. ARA da lezyonlar başta kalp olmak üzere eklemler, cilt, cilt altı dokusu, beyin ve akciğer damarlarında izlenir. Bu lezyonlar, temelde ortada fibrinoid nekroz ve onu çevreleyen mononükleer enflamatuvar hücrelerden oluşmaktadır. ARA'da kardit pankardit şeklinde olup, kalbin tüm tabakalarını tutmaktadır. Enflamatuvar bir hastalık olan ARA'nın seyri sırasında görülen bu eksudatif ve proliferatif enflamasyonlardan akut dönemde görülen enflamasyon eksudatif enflamasyon olup, genelde nonspesifiktir. Kronik dönemde miyokard dokusunda

görülen proliferatif enflamasyon ise ARA için tanı koydurucu en önemli patognomonik bulgu olan Aschoff nodüllerini içermektedir. Aschoff nodülleri hastalık tablosu düzeldikten sonra bile yıllar boyunca miyokard dokusu içinde saptanabilmektedir.^{8,46} ARA'nın histolojik tanısı, Aschoff cisimlerinin varlığına dayanır. Ancak yapılan bir çalışmada bu cisimlerin ARA'lı hastaların üçte birinden daha az kısmında tekrarlayan ARA atağı geçiren hastaların ise yalnızca beşte ikisinde izlenmiştir. Bu nedenle endomiyokardiyal biyopsi tanı için çok yararlı bir yöntem değildir.⁴⁹

Akut romatizmal ateşteki miyokard tutulumu miyokardit olarak isimlendirilmesine rağmen viral miyokarditlerde izlenen belirgin miyosit hasarı izlenmez. ARA'da patolojik olarak izlenen diğer yapı Anitckow veya Caterpillar hücreleri olarak isimlendirilen hücrelerdir. Aschoff cisimcikleri, ARA'nın ortaya çıkışından ortalama 4 hafta sonra miyokard içerisinde izlenir ve 3-6 ay kadar uzun süre burada kalmaya devam eder. ARA miyokarditinde miyositlerde hasar gözlenmediğinden troponin I düzeyleri normal sınırlarda olup, ARA'da gelişen kalp yetmezliğinde miyokarditin rolü son yıllarda sorgulanmaya başlanmıştır.^{47,48}

Akut romatizmal ateşte izlenen perikardit serofibrinöz bir eksuda birikimi ile karakterizedir. ARA'nın kapak lezyonları atrioventriküler kapakların kapanma çizgileri boyunca genellikle atrial yüzde 1-2 mm'lik küçük vejetasyonlar şeklinde izlenirken arteriyel kapaklarda ise ventriküler yüzeyde küçük vejetasyonlar şeklinde izlenmektedir.

Klinik belirti ve bulgular

Bugün için ARA tanısı koymamızı sağlayacak tek bir klinik bulgu ya da özgül bir laborotuar testi yoktur. Hastalığın tanısının kolay konulmasını sağlamak ve yanlış tanı olasılığını en aza indirmek için ilk kez 1944'te geliştirilmiş olan " Jones ölçütleri" adıyla bilinen tanı ölçütleri kullanılmaktadır. Bu ölçütler temel ilkelerine sadık kalınarak 4 kez düzenlenmiş ve 1992 yılında son şeklini almıştır.⁵¹ Geçirilmiş streptokok enfeksiyonu bulguları ile desteklenen 2 majör veya 1 majör 2 minör kriter ile ARA tanısı konulmaktadır.

Tablo 2: Modifiye Jones Kriterleri (Akut romatizmal ateşin ilk atağı için güncellenmiş Jones Kriterleri, 1992)⁵¹

Majör kriterler	Minör kriterler	Geçirilmiş enfeksiyon kanıtı	AGBHS
Kardit	Ateş	Artmış ASO ve diğer streptokok düzeyleri	antikor
Poliartrit	Artralji	Boğaz kültüründe varlığı	AGBHS
Sydenham koresi	Uzamış PR aralığı	veya hızlı streptokok antijen testlerinde pozitiflik	
Eritema marginatum	Artmış akut faz reaktanları		
Subkutan nodüller	-Sedimentasyon hızı -CRP		

Bazı özel durumlarda tanı için modifiye Jones kriterleri aranmaz.

- 1- Kore: Diğer nedenlere bağlı olmaması gerekir.
- 2- Sinsi veya geç başlangıçlı kardit (sessiz kardit)
- 3- Tekrarlayan ARA atağı: RKH olduğu bilinen hastalarda tek kriter olarak ateş, artralji veya yüksek akut faz reaktanlarının varlığı ile geçirilmiş AGBHS delili yeterlidir.⁵³

Majör Kriterler

Artrit

Poliartrit en sık görülen, prognozu en iyi olan ve ayırıcı tanıda en fazla zorluk çıkaran major bulgudur. Artrit ARA'lı hastaların %75'inde görülür, tipik olarak diz, dirsek, ayak ve el bileği gibi büyük eklemleri tutar. Sıklıkla iki veya daha fazla eklemi tutar. Asimetrik, gezici, non-süpüratif tarzdadır. Bir eklemdaki tutulum birkaç gün-bir hafta kadar sürer. Klasik olarak, birkaç eklemden arka arkaya artrit bulguları belirir. Bir eklem veya eklem grubundaki inflamasyon düzeldikten sonra, diğer bir eklem veya

eklem grubu tutulur. Yani gezici bir poliartrit tablosu vardır. Tedavi edilmese bile yaklaşık dört hafta içinde sekel bırakmadan iyileşme gösterir. Nadiren effüzyon gelişebilir. Çocuklarda erişkinlere göre daha kısa ve hafif seyreder. Artritin şiddeti ile kardiyak tutulum arasında genellikle ters orantı vardır. Monoartrit veya oligoartrit gelişmesi veya el ve ayaktaki gibi küçük eklemlerinin tutulması olağan değildir. Antienflamatuar ilaçlar ile tedaviye cevap tamdır. Düşük dozda salisilat tedavisine bile hızla cevap alınır. Salisilat tedavisine rağmen 48 saat içinde eklem bulgularının düzelmemesi durumunda ARA tanısı şüphelidir. Klasik bilgilerimiz dışında, aksiyel iskelet, özellikle de servikal omurga tutulabilir. Atlantoaksiyel subluksasyon olabilir. Beş yaş altında sık görülmez, 3 yaş altında son derece nadirdir. Büyük çocuklarda ilk belirti genellikle ateş ve artritir. Artrit sıklığı yaşla artar.^{33,54}

Poststreptokoksal reaktif artrit tablosu ile karışabilir. Poststreptokoksal reaktif artrit daha küçük eklemleri de tutabilir ve sıklıkla gezici olmayan ve iyileşme süresi uzun olan artrit tablosu oluşturur.⁵³

Kardit

Kardit %50-60 oranında görülür ve hastalığın en önemli majör bulgusudur.²⁶ Endokard, miyokard ve perikard değişik derecelerde tutulabilir. Klinikte kardit varlığı; üfürüm duyulması, kardiyomegali, konjestif kalp yetersizliği, perikardiyal effüzyon veya frotnan saptanması ile anlaşılır. Endokard tutulumu, kapak yetersizlikleri ile kendini gösterir. Akut hastalık sırasında yetersizlik görülürken, ilerleyen yıllarda fibrozis nedeniyle stenozlar ortaya çıkar. En sık mitral kapak tutulur. Fizik muayenede mitral kapağın tutulmasına bağlı olarak apekte aksillaya yayılan, pansistolik mitral yetersizlik üfürümü ve mitral kapak yaprakçıklarının ödemli olmasına bağlı olarak ve mitral kapak ağzını daraltması nedeniyle mid-diyastolik "Carey Coombs üfürümü" duyulabilir.

Mitral kapaktan sonra en sık tutulan kapak, aort kapağıdır. Sıklıkla mitral kapak tutulumuyla beraberdir. İkinci kalp sesiyle başlayan, aort odağından sternumun sol yanına yayılan diyastolik dekresando tarzında yetmezlik üfürümü duyulur. Aortik yetmezlik akımının etkisiyle mitral kapak ön yaprakçık açılımının kısıtlanmasına bağlı olarak, geç diyastolik üfürüm de duyulabilir (Austin Flint üfürümü). Triküspit ve pulmoner kapaklar ise nadiren etkilenirler.⁸

Miyokardit varlığını gösteren esas bulgu; ateşten bağımsız, dinlenme sırasında gözlenen sinüs taşikardisidir. Bunun dışında kardiyomegali, kalp yetersizliği, ritim ve iletim bozuklukları görülebilir. Romatizmal karditte sol ventrikül sistolik işlevlerinin korunması ve kreatin fosfokinaz ve MB fraksiyonu gibi enzimler ve Troponin T gibi proteinlerde artış olmaması nedeniyle bunun gerçek bir miyokardit olmadığı öne sürülmüştür.^{106,107} Ancak biyopsi örneklerinde inflamasyon varlığının gösterilmiş olması ve bir çalışmada da QT dispersiyonunun arttığına gösterilmesi, miyokard tutulumunun kanıtları olarak düşünülebilir.¹⁰⁸ Romatizmal karditte viral miyokarditteki gibi hücre nekrozu ve kalıcı işlev bozukluğu gözlenmez.^{106,107} İletim sistemi tutulduğunda AV bloklar ve ventriküler aritmiler görülür. En sık 1. derece AV blok görülür, kardit olmayan vakalarda minör kriter kabul edilir. İkinci ve üçüncü derece AV bloklar nadirdir.^{109,110}

Perikardın tutulmasına bağlı olarak klinikte göğüs ağrısı, kalp seslerinin derinden gelmesi, frotman duyulması, telekardiyogramda kardiyomegali ve çadır kalp görülmesi söz konusudur. Genel olarak perikard tutulumu sekel bırakmaz, konstriktif perikardit ve tamponada yol açmaz, ancak nadir de olsa tamponad gelişen olgular bildirilmiştir.¹¹¹ EKG’de tipik perikardit bulgusu düşük voltaj ve ST değişiklikleridir.

Kardit; ateş, kilo kaybı, halsizlik gibi bulgular göstererek uzun süre sinsi seyredebilir. Bu sırada hastada akut faz reaktanlarında ve ASO düzeylerinde artış gibi bulgular saptanmayabilir. Hastaya tanı konduğunda genellikle hastalık ilerlemiş ve ciddi kapak tutulumu ortaya çıkmıştır. Bu tabloya “sinsi kardit” adı verilir, tek başına tanı koydurucudur.^{112,113} Sinsi başlangıçlı karditte, hastaların öyküsünde genellikle haftalarca devam etmiş subfebril ateş ve tekrarlayan eklem ağrıları vardır.¹¹⁴ Bazı hastalarda, klinik olarak kardit düşündürülen bulgu olmamasına ve üfürüm duyulmamasına rağmen EKO yapıldığında kapak yetersizlikleri saptanabilir. Bu durum “sessiz kardit” olarak adlandırılır. Yapılan çalışmalarda sıklığı %12-21 olarak bildirilmiştir.^{117,118} Artrit veya koreli olgularda ekokardiyografi (EKO) ile subklinik valvüler yetersizliklerin saptanması önemlidir.^{115,116} Sessiz kapak yetersizliklerinin uzun dönem izlem sonuçları bilinmemektedir.^{117,118}

Akut romatizmal ateş seyri sırasında kalp tutulumu hafif, orta ve ağır olarak derecelendirilmektedir.¹¹⁹

Hafif kardit: Teleradyografi, EKG, ekokardiyografi ve fizik muayenede kardiyomegali ve kalp yetersizliği bulgusu olmaksızın hafif mitral yetmezlik (MY) ve aort yetmezliği (AY) varlığı hafif kardit olarak değerlendirilir.

Orta kardit: Klinik olarak orta derecede kapak lezyonu (örneğin orta derecede kardiyomegaliye sebep olmuş) veya EKO'da kardiyak boşluklarda genişleme olması ya da orta derecede kapak lezyonu bulgusu (orta derecede MY; yüksek yoğunlukta proksimal jet akımının sol atriyumun yarısını veya daha azını doldurduğunda söz konusudur. Orta derecede AY'nin EKO bulgusu ise; regürjitan akım çapının, sol ventrikül çıkış çapının % 15-30'u olmasıdır).

Ağır kardit: Daha önce ARA nedeniyle kalp ameliyatı geçirilmiş olması veya klinik olarak ağır kapak yetmezliği bulguları (ağır kardiyomegali ve/veya kalp yetersizliği) veya EKO'da ağır kapak lezyonu bulguları (MY için pulmoner venlerde anormal regürjitan akım bulgusu, AY için inen aortada Doppler akımı bulguları)

Romatizmal karditte erken dönemde kapak yetersizlikleri görülürken, uzun dönemde fibrozis nedeniyle kapak darlıkları görülür. En sık mitral darlık(MD) görülmektedir. MD teşhisinde; birinci kalp sesinin şiddetlenmesi, mitral açılma sesi, middiastolik ve presistolik üfürüm belirmesi, sol atrial ve sağ ventrikül hipertrofisi bulgularının saptanması değerlidir.^{8,120}

İlk ARA atağı sırasında kalp tutulumu varsa, tekrarlayan ataklar sırasında kardit geçirme olasılığı daha yüksektir. Tekrarlayan ataklar en sık ilk beş yıl içinde ortaya çıkar. Tedavi edilmediği takdirde akut kardit süresi 6 haftadan 6 aya kadar değişir. Çocuğun yaşı ne kadar küçükse kardit geçirme olasılığı da o kadar fazladır. Tekrarlamaları etkileyen faktörlerden en önemlisi korunma ve ilk atağın şeklidir. Karditli hastalarda rekürrens, daha sık ve önemli olmaya eğilimlidir.

Karditin varlığı ARA'nın prognozunu belirlemede önemlidir. Başlangıçta hafif olan kapak lezyonları zaman içinde gerileyip ortadan kalkabilmektedir.^{75,76} Meira ve ark.⁷⁶ hafif ve orta dereceli kapak lezyonlarında 6 ay-7 yıllık izlem süresi içinde %61 oranında gerileme saptamışlardır.

Kronik Romatizmal Kalp Hastalığı

Mitral Yetmezliği

Kronik MY çocuklarda ve genç erişkinlerde görülen en sık kronik RKH formudur. Lezyonun ağırlığı hastadan hastaya değişir. Akut romatizmal MY'de

genelde kordada uzama ve anüler genişleme olurken kronik romatizmal MY'de lifletlerin kalsifiye olmasıyla kapakçıklarda kısıalma, sertlik, birleşme ve deformasyon oluşmaktadır. Ayrıca LV genişlemesi de kordaların anormal yönlenmesine neden olarak koaptasyonu bozar, böylece daha fazla yetmezlik orifisi oluşur, sol atrium genişler ve bundan dolayı yetmezlik daha da artar. Kronik MY'de sol ventrikül ve sol atrium genişleyerek basınç yükünün dengelenmesine çalışılır. Hastalar yıllarca asemptomatik kalabilmelerine karşın MY zamanla ilerleyebilir. Ciddi MY ileride ventrikül fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Semptom olarak egzersiz dispnesi veya azalmış egzersiz toleransı daha ventrikül fonksiyon bozukluğu görülmeden veya beraberinde ortaya çıkabilir.^{121,122}

Aort Yetmezliği

Kronik romatizmal AY'de kapakçıkların kalınlaşması, fibrozis ve kontraktür olması sonucunda anormal koaptasyon olmakta ve yetmezlik oluşmaktadır. Bu yetmezlik sol ventriküle hem basınç hem de hacim yükü getirmektedir. Kompansatuvar dönemde dakika atım hacmini sağlamak için sol ventrikül genişler, kalbin ejeksiyon fraksiyonu korunmuş olur. Kronik MY'de olduğu gibi kronik AY'de de hastalar yıllarca asemptomatik kalabilir. Ancak zamanla dekompensasyon gelişir, sol ventrikül fonksiyonları bozulur ve semptomlar ortaya çıkar.^{121,122}

Mitral Darlık

Akut romatizmal ateş, kronik RKH olan mitral darlığın en sık nedenidir. MD akut karditte görülmez. Gelişmiş ülkelerde semptomlar 15-40 yıl sonra görülürken, gelişmekte olan ülkelerde 2. dekattaki çocuklarda bile görülebilmektedir.

Kronik RKH olan erişkinlerin %25'inde MD, %40'ında ise MD ve MY birlikteliği vardır. Kadınlarda erkeklere göre daha sık görülür. Kapakçıkların kalınlaşması, komisür, yaprakçık ve kordaların birleşmesi, kordaların kısıalması sonucunda huni şeklinde orifis ve darlık oluşmaktadır. Zamanla kapak kalsifiye olabilmekte ve yapısı iyice bozulmaktadır.^{121,122}

Aort Stenozu

Aort stenzuda ataktan 20-40 yıl sonra aort kapakçıklarının kalınlaşması, yapışması, fibrotik olması, komisürlerde birleşme ve kalsifiye nodüllerin oluşmasıyla oluşmaktadır. Darlık sıklıkla yetmezlik ile birlikte bulunur ve genelde bunlara romatizmal mitral kapak hastalığı da eşlik eder. Darlık yavaş geliştiğinden ventriküler kompensasyon olur ve semptomlar geç (5-6. dekatta) ortaya çıkar.^{121,122}

Sağ Kalp Tutulumu

Triküspid kapak pulmonere göre daha sık tutulur, ancak bu kapakların ciddi tutulumu çok nadirdir. Romatizmal triküspid kapak stenozu ve/veya yetmezliği hemen daima ciddi mitral veya aort tutulumu ile beraberdir. Romatizmal triküspid kapak tutulumu klinik olarak %3-5, EKO ile %7-9, histolojik olarak ise %15-40'ında görülmektedir.^{121,122}

Sydenham Koresi

İlk olarak 1686'da Thomas Sydenham tarafından tanımlanmıştır. Kesin etyoloji hala belli olmamakla birlikte, GABHS'ye karşı oluşan anormal bir immün cevap sonucu geliştiği düşünülmektedir. Santral sinir sisteminde kollajen dokunun inflamasyonu, dejenerasyonu ve fibrozisi ile karakterizedir. ARA'lı hastaların %10-30'unda *Sydenham* koresi görülmektedir. Genellikle 5-15 yaş arası çocuklarda, en fazla da 8-9 yaşlarında görülür. Kızlarda erkeklerden iki kat fazla görülmektedir. Koreik hareketler başlangıçta parmakları ve elleri tutan, sonra tedricen kol, bacak ve gövdeye yayılan, yüz ve dili de etkileyen hızlı, düzensiz, amaçsız, istemsiz, önceden tahmin edilemeyen, vücudun bir yarısından diğer yarısına doğru yönelen, non-stereotipik kısa amplitüdü hareketlerdir. Yürüme, kalem kullanma, kaşık tutma gibi beceriler bozular. Koreik hareketler stres durumunda ve dış uyarılarda artar. Uyuyunca istemsiz hareketler kaybolur. Çoğu vakada beraberinde obsesif kompulsif yapı, iritabilite, emosyonel dengesizlik gibi psikolojik bozukluklar görülebilir.

Streptokok enfeksiyonundan yaklaşık 1-6 ay sonra ortaya çıkar. Bu yüzden diğer major bulgular olmadan da görülebilir ve tek başına tanı için yeterlidir. Vakaların %23-84'ünde kardiyak tutulum bildirilmiş olup özellikle endokardit tarzındadır. Artrit ve diğer bulgular ile birlikteliği daha nadirdir. Latent periodun uzun olması nedeniyle eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) normal bulunabilir. ASO ve antideoksiribonükleaz (Anti-DNase B) yüksek bulunabilir.

Korede elektroensefalografi ve görüntüleme yöntemleri tanıda faydalı olmadığından klinik tanı kullanılır. Hafif vakalar tedavisiz 1-2 haftada düzelebilir. Şiddetli vakalarda ise tedaviye rağmen semptomlar 3-4 ay sürebilir. Hastaların üçte birinde ise iyileşme sonrası rekürrens gözlenir.^{54,56,58,61}

Eritema Marginatum

Akut romatizmal ateşli hastalarda karakteristik olarak izlenen ve seyrek rastlanan major bulgudur (<%3). ARA dışında nadiren görülür. Hızla çevreye doğru genişleyen, halka-harita şeklinde (ortası beyaz, etrafı pembe) lezyonlar ile karakterizedir. Bu belirtiler maküler tarzda olabilecekleri gibi deriden kabarık da olabilir. Hastalığın inaktif dönemlerinde de ortaya çıkabilir. Lezyonlar genellikle eritematöz makül şeklinde başlar, daha sonra çevreye doğru genişleyerek tam veya yarım halka şeklinde belirtiler ortaya çıkar. Belirtiler genellikle gövde ve ekstremitelerde lokalizedir ve ekstremitelerin proksimalinde nadiren görülür. Yüzde görülmezler. Lezyonlar saat ya da günler içinde de çevreye doğru genişler. Ağrısız ve kaşıntısızdır. Üzerine basılınca solmaz. Sıcak uygulama yapılırsa lezyonlar daha belirgin hale gelirler.^{53,54,56}

Subkutan Nodül

Akut romatizmal ateşli hastalarda en nadir görülen major bulgudur. Bu sert, ağrısız nodüller özellikle el bileklerinin, dizlerin, dirseklerin ekstansör yüzünde, oksipit kemiği örten saçlı deride, torakal ve lomber vertebra spinöz çıkıntılarının üzerinde bulunurlar. Deri altında kolayca hareket ettirilebilen, sert, ağrısız, yaklaşık 1 cm çapında ve iltihabi olmayan nodüllerdir. Birden fazla nodül bir arada olabilir. Üzerinde renk değişikliği olmaz. Üç yaşın altında ve erişkinlerde çok nadir görülürler. Hemen

kaybolabildikleri gibi haftalarca da sürebilirler. Sistemik lupus eritematozu ve jüvenil idiyopatik artritte de görülebildiğinden ARA için patognomonik değildir. Subkutan nodüller, nadiren tek başlarına major kriter olarak çıkabilmektedirler; saptandıklarında çoğunlukla beraberinde kardit de vardır.^{53,54,57,58,213}

Minör kriterler

Klinik ve laboratuvar kaynaklı bu bulguların tümü ARA için major kriterlere göre daha az spesifiktirler. Ateş, artralji, akut faz reaktanlarında yükselme, EKG'de PR aralığında uzama minör bulgulardır.⁵⁶

Ateş

Ateş, hastalığın başlangıç döneminde ve ARA'lı hastaların yarısından fazlasında gözlenir. Genellikle 37.8-39.5°C arasında seyreder ve tedavi edilmez ise 1-2 hafta içinde gerileme gösterir. Ancak, perikardit ve miyokarditli ağır olgularda ateş 39-40°C'ye kadar yükselebilir. Ateşle birlikte kırıklık, asteni, kilo kaybı ve iştahsızlık bulunabilir.⁶² Poliartritli ve karditli hastalarda ateş çok sık görülür hatta ateş yoksa tanıyı gözden geçirmek gereklidir. Ateş yokluğu ARA tanısını ekarte ettirmediği gibi, ateşin kaybolması romatizmal aktivitenin devam etmediği anlamına gelmez. İzole Sydenham koresi ile başvuran hastalarda ateş beklenmez.^{54,56,58}

Artralji

Artralji, enflamasyona işaret eden objektif bulgular (şişlik, hareket kısıtlılığı, kızarıklık, sıcaklık) olmaksızın bir veya daha fazla eklemde ağrı olarak tanımlanmaktadır. Artralji, artritli hastaların tanısında minör kriter olarak kabul edilmez. Bazen ağrı eklem hareketlerini kısıtlayacak kadar fazla olabilir. Artrit ile karıştırılmamaya özen gösterilmelidir.^{54,56-58}

PR Uzaması

Elektrokardiyografide PR aralığında uzama olması nonspesifik bir bulgudur. Çocuk hastalarda yaşa ve kalp hızına göre değerlendirilir. Elektrokardiyografide PR intervalinde uzama olması ne kardit hakkında bilgi verir, ne de uzun dönemli kardiyak sekelle ilgili fikir verir.^{54,56-58}

Artmış Akut Faz Reaktanları

Akut romatizmal ateş tanısında minor kriterlerdir. Akut faz reaktanlarının yüksekliği inflamasyonun nonspesifik bir göstergesidir. En sık artan ve kullanılan akut faz reaktanları ESH ve CRP dir. Her iki test de izole koreli ve eritema marginatumlu hastalarda normal olabilir. Birden fazla akut faz reaktanı pozitif olsa bile tek minor kriter kabul edilir.^{54,56,57,58}

Eritrosit sedimentasyon hızı, kardit ve/veya poliartritli hastalarda, akut dönemde daima yüksektir. ESH tedavisiz hastalarda 6-12 hafta yüksek kalır. Romatik aktivite yatışığında genellikle normale döner. ESH akut dönemde prognoz hakkında bilgi verebilir. ESH hastalığın seyrini izlemede en yararlı testtir ve ARA'da kalp yetersizliği dışında yüksek olarak saptanır.^{54,56,57,58}

C-reaktif protein, ESH'den daha hassastır. Koreli hastalar dışında bütün hastalarda pozitif olabilir ve hastalığın aktif olup olmadığı hakkında bilgi verir. Romatizmal atağın erken iyileşme döneminde ESH normale dönmeden önce CRP'nin kanda kaybolduğu gözlenmiştir. CRP, ESH'dan farklı olarak kalp yetersizliğinden ve anemiden etkilenmez. Bu nedenle CRP romatizmal aktivitenin derecesini ve doku enflamasyonunun varlığını saptamada daha doğru bir ölçümdür.^{54,56,57,58}

Jones Kriterleri Dışındaki Klinik ve Laboratuvar Bulgular:

Akut romatizmal ateş atağının erken döneminde, henüz diğer bulgular gelişmeden şiddetli karın ağrısı ve burun kanaması olabilir. Karın ağrısı mikrovasküler mezenterik inflamasyona bağlıdır. Karın ağrısı salisilat kullanımı ile

kaybolur. Diğer non-spesifik klinik bulgular arasında anoreksi, halsizlik, romatik pnömoni ve hematüri sayılabilir.^{54,56,57,58}

Lökositoz, nötrofili, normositik normokromik anemi ARA'nın başlangıç döneminde görülebilir. İltihabın akut döneminde hipoalbuminemi, hiperglobulinemi ile globulin fraksiyonlarında ve fibrinojen seviyesinde yükselme gözlenebilir.⁵⁷

Destekleyici bulgular

Önceden geçirilmiş streptokok enfeksiyonu bulgularının saptanması ilk atak ARA tanısı ve daha önceden kardiyak tutulum olmayan ARA rekürensini doğrulanması için gereklidir. Bu delillerden en az biri için olmalıdır.

Geçirilmiş streptokok enfeksiyonunun gösterilmesi:

Akut romatizmal ateş, GABHS'lerin neden olduğu tonsillofarenjit sonrası nadir olarak meydana gelir. Kore ve kronik kardit vakaları hariç ARA tanısı için geçirilmiş GABHS enfeksiyonunun kanıtlanması gereklidir. Bu amaçla altın standart boğaz kültürüdür. Uygun şartlarda alınacak boğaz kültürü geçirilmiş streptokok enfeksiyonunu göstermede standart bir ölçü olsa da kronik kolonizasyonda da pozitif olabilir ve akut hastalık etkeni başka patojen olabilir. Bu nedenle streptokokların ekstraselüler enzimlerine karşı oluşan nötralizan antikorların ölçümüne dayalı testler kullanılmaktadır. Bu testlerin spesifiteleri yüksek ancak sensitiviteleri düşüktür. Bu testlerde en sık değerlendirilen antikorlar ASO ve Anti-DNase B testleridir. Antikarbohidrat A, antistreptodornaz, antifosfopüridin nükleotidaz, antistreptokinaz, antihyaluronidaz ve antistreptokokal esteraz ölçümleri geçirilmiş streptokok enfeksiyonunu göstermede daha ender kullanılan testlerdir. Bu antikor testlerinde elde edilen titreler koreli ve kronik karditli hastalarda normal veya normale yakın olabilirler. Ayrıca antikor titreleri antibiyotik veya steroid tedavisi nedeniyle baskılanmış olabilir. Bu testler streptokok enfeksiyonu için spesifiktir. Ancak ARA için spesifik değildir. Klinik bulgular eşliğinde ARA tanısı için kullanılabilirler. Antistreptolizin O titresi yaş, coğrafi alan ve streptokok enfeksiyonların sıklığına etki eden faktörlere bağlı olarak değişir. ARA'nın erken döneminde hastaların %80'inde ASO yüksektir. Normal bireylerin %20'sinde de ASO yüksektir. Yüksek

streptokok antikor titresi önceden GABHS enfeksiyonunun geçirildiğinin açık delili olmasına rağmen, erken enfeksiyonu göstermenin daha güvenilir yolu akut ve iyileşen hasta serumları arasındaki titre artışının gösterilmesidir.⁵⁴ ASO enfeksiyon sonrası bir haftada yükselmeye başlar, 3-6 haftada pik yapar ve 6-8 haftada düşmeye başlar. Antideoksiribonükleaz B biraz daha geç olarak 1-2 haftada yükselmeye başlar, 6-8 haftada pik yapar ve 3 aya kadar yüksek kalabilir.^{55,63,64} ASO titresi daha erken yükselirken, Anti-DNase B daha uzun süre yüksek kalır ve ASO'nun normal olduğu durumlarda yükselmiş bulunabilir.^{54-58,65,66}

Ekokardiyografi

İki boyutlu ve Doppler EKO kalp tutulumunu göstermede en değerli tanı aracıdır. Kalp kapaklarının fonksiyon ve yapısının değerlendirilmesinde, kalp boşluklarının ölçümünde, perikard efüzyonunun varlığının araştırılmasında ve pulmoner arter basıncının ölçülmesinde kullanılır. Doppler ile kapaklardaki yetmezlik ve darlığın şiddeti değerlendirilir. İki boyutlu EKO-Doppler ve renkli akım Doppler yardımıyla sessiz fakat önemli kapak yetmezlikleri teşhis edilebilir. Ayrıca EKO ile klinik olarak bulgu vermeyen subklinik veya sessiz karditin saptanması da mümkündür.¹²¹

Ayırıcı tanı

Akut romatizmal ateş, birden fazla organ ve dokuyu tutabilmesi nedeniyle birçok hastalıkla karışabilmektedir. Ayırıcı tanıda şu hastalıklar önemlidir:

Akut romatizmal ateş tanısında daha sık karşılaşılan major kriterlerden artrit, kore ve kardit varlığında ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken hastalıklar Tablo 3'de kısaca özetlenmiştir.⁵⁸

Tablo 3: ARA ayırıcı tanısındaki hastalıklar⁵⁸

Artrit	Kardit	Kore
Romatoid artrit	Viral miyokardit	Huntington koresi
Reaktif artrit	Viral perikardit	Wilson hastalığı
Serum hastalığı	İnfektif endokardit	SLE
Orak hücreli anemi	Kawasaki hastalığı	Serebral palsi
Maligniteler	Doğuştan kalp hastalığı	Tikler
SLE	Mitral kapak prolapsusu	Hiperaktivite
Lyme hastalığı	Masum üfürümler	
Gonokok infeksiyonu		

Klinik seyir ve prognoz

Hastalık her bireyde farklı klinik tablo oluşturur ve bu klinik tablo hafif bir eklem tutulumundan ağır bir kardite kadar değişkenlik gösterebilir. 2003 DSÖ kriterleri romatizmal kalp hastalığı olanlarda tekrarlayan ARA ataklarının tanısı için gerekli şartları şu şekilde belirlemiştir;

İlk Atak:

-Jones kriterleri

Tekrarlayan Atak:

-Romatizmal kalp hastalığı tanısı daha önce koyulmamış ise ilk atak kriterleri kullanılır.

-Romatizmal kalp hastalığı bilinen hastada: iki minör bulgu ile birlikte geçirilmiş streptokok infeksiyonu bulgusu olmalı (Jones kriterlerindeki geçirilmiş streptokok infeksiyonu bulguları veya kızıl)⁷⁴

ARA'nın rekürrensi

Epidemik streptokokal farenjiti izleyerek genel popülasyonda ARA'nın ilk atak oranı %2-3'dür. Önceden romatizmal ateş öyküsü olan hastalarda ikinci atak oranı %50-65'e kadar yükselir. Rekürrensler en fazla ilk 5 yılda olmaktadır. Romatizmal

atak geçirme oranı, son ataktan 10 yıl veya daha fazla bir süre sonra %48'lere kadar azalır. İkinci enfeksiyonu takiben romatizmal atak ve valvuler kalp hastalığı olasılığı artar. RKH olan bir kişide ateş varsa, ayrıca streptokok enfeksiyonu mevcut ise hastalığın rekurrensinden şüphelenilmelidir.⁷⁸

Komplikasyonlar

Romatizmal kalp hastalığı, ARA'nın en önemli komplikasyonudur. Ağır olgularda konjestif kalp yetersizliği gelişebilir, ölüm ile sonuçlanabilir. Aritmiler, perikardit, romatik pnömoni, pulmoner emboli, pulmoner enfarkt diğer komplikasyonlardır. Ayrıca kapak değişimine gitmiş hastalarda, antikoagulan kullanımıyla ilgili problemler, tromboembolik olaylar, endokardit riski, gebelikte karşılaşılan sorunlar ileri yaşlarda ortaya çıkabilmektedir. Bütün bu komplikasyonların önlenmesi için elimizdeki en önemli silah sekonder profilaksidir.⁷⁸

Tedavi

Akut romatizmal ateş tedavisi başlanmadan önce tanının doğru konulması önemlidir. Tanının gereksiz konulması (overdiagnosis), çocuklara gereksiz yere 3 haftada bir penisilin G yapılmasına neden olacaktır. Tanının yetersiz konulması da (underdiagnosis), atakların artmasına ve giderek kardiyak hasarın ve ölümlerin artmasına neden olacaktır. Tanıdan emin olmadan tedaviye başlanmamalıdır.^{79,80}

ARA tanısı alan hastaların tedavileri;

- 1.Streptokokal enfeksiyonun eradikasyonu,
- 2.Klinik bulguların tedavi edilmesi,
- 3.Tekrarlayan streptokok enfeksiyonlarının engellenmesi için profilaksi uygulaması
- 4.Hasta ve ailesinin tekrarlayan streptokok enfeksiyonlarının önemi ile ilgili olarak bilgilendirilmesi,
- 5.Kardiyak tutulumu olan hastalarda bakteriyal endokardite yönelik profilaksi uygulanması ve bu konunun önemi ile ilgili hasta ve ailesinin aydınlatılması, şeklinde planlanır.^{79,80}

Akut romatizmal ateşin kendine özgü bir tedavisi yoktur. Tedavinin amacı; streptokok enfeksiyonu ile mücadele etmek, yakınmaları düzeltmek ve kalp hasarını azaltmaktır. Tedavi üç bölümden oluşur.⁵⁵

- 1- Antimikrobiyal tedavi
- 2- Antienflamatuar tedavi
- 3- Destekleyici tedaviler

Antimikrobiyal Tedavi

Antibiyotik tedavisi iki amaçla uygulanır:

a)Primer profilaksi: Amaç; streptokoklara bağlı üst solunum yolu enfeksiyonunun tedavisi ve boğazda halen var olabilecek streptokokların temizlenmesidir. Boğaz kültürü negatif saptansa da bu tedavinin uygulanması gerekir. Hatta boğaz kültürü alındıktan hemen sonra tedavi başlanmalıdır. Semptomların başlamasından sonraki dokuz gün içinde, uygun antistreptokokal tedavinin başlanması, romatizmal ateş gelişme riskini belirgin olarak azaltır. Bunun için aşağıdaki tedavi şemalarından biri kullanılır.^{55,81-84}

1-Benzatin penisilin (En etkilisi): 600.000 Ü. (27 kg'ın altında) 1.200.000 Ü. (27 kg'ın üstünde) tek doz İM

2-Prokain penisilin: 800.000 Ü/gün, İM, on gün süreyle

3-PenisilinV (Fenoksümetilpenisilin): 2-3x250mg (<27 kg), 2-3x500 mg (>27 kg) p.o. on gün süreyle

4-Amoksisilin: 50mg/kg günde tek doz, max 1g, 10 gün süreyle, penisilin allerjisi olanlarda ise;

5- Sefaleksil: 2x20 mg/kg (max:500 mg/doz), on gün

6- Sefadroksil: 1x30 mg/kg (max:1g), on gün

7- Klindamisin: 20 mg/kg/gün (max:1.8g/gün), oral, üç dozda, on gün

8- Azitromisin: 12 mg/kg, günde tek doz, on gün

9- Klaritromisin: 15 mg/kg/gün, iki dozda, on gün

Streptokoklara bağlı üst solunum yolu enfeksiyonlarının daha kısa süreli tedaviler ile düzelebileceği fakat ARA ve glomerulonefrit gibi nonsüpüratif komplikasyonların kısa süreli penisilin tedavisi ile önlenemeyeceği belirtilmektedir. Fakat toplam 60 mg/kg azitromisin ile üç veya beş günlük tedavi ya da sefaklor,

sefdinir, sefiksim veya sefpodoksim gibi geniş spektrumlu bir sefalosporin ile beş günlük tedavinin standart tedavi ile karşılaştırıldığında etkinlik açısından önemli bir fark olmadığı, nonsüpüratif komplikasyonları da önlediği gösterilmiştir.^{85,86}

b) Sekonder profilaksi: Amaç streptokokların yeniden kolonize olmasını engelleyerek ARA'nın tekrarlamasını önlemektir. Bu amaçla şu protokollerden biri kullanılır.^{81,82,84,87}

1. Benzatin penisilin: 600.000 Ü (27 kg'ın altında) 1.200.000 Ü (27 kg'ın üstünde) tek doz im. 3 haftada bir

2. Penisilin V: 2x250mg, oral

3. Sulfadiazin: 500mg tek doz oral (27 kg'ın altında) 1g (27 kg'ın üzerinde)

4. Makrolid veya Azalid (penisilin ve sulfadiazin allerjisi varsa): Doz yaşa ve kiloya göre değişir. Benzatin penisilin ile profilaksi en etkin korumayı sağlar. Oral uygulamaların etkinliği düşük ve hasta uyumu da kötüdür.

Amerikan Kalp Birliği'nin sekonder profilaksinin süresi ile ilgili en son düzenlemesi şu şekildedir.¹⁰⁵

1. Karditsiz ARA: 5 yıl veya 21 yaşına kadar (hangisi daha uzunsa)

2. Kardit var ama kalıcı kapak hasarı yok: 10 yıl veya 21 yaşına kadar (hangisi daha uzunsa)

3. Kardit var, kalıcı kapak hasarı var: Son ataktan sonra en az 10 yıl ve en az 40 yaşına kadar; bazen hayat boyu. Hastaya prostetik kapak takıldığı durumlarda, profilaksiden vazgeçilmesi söz konusu değildir.

Romatizmal kapak hastaları aynı zamanda infektif endokardit profilaksisi de almalıdır. Böyle durumlarda penisilin grubu dışındaki antibiyotikler tercih edilir.

c) Primordial Profilaksi: Sosyoekonomik koşulların düzeltilmesi, kalabalık yaşam koşullarının, hijyenin, sağlık hizmetlerinin iyileştirilmesi korunmada etkilidir.⁸⁴ Korunmada daha etkili bir yöntem; streptokok aşısı olabilir. Grup A streptokok için multivalan, yan etkisi olmayan, tercihen oral veya mukozal aşı geliştirilmelidir. İnsanlarda uygulanabilecek böyle bir streptokok aşısı henüz yoktur. Farelerde yapılan bir çalışmada, streptokok yüzey protein C5a peptidazı verilmesi ile grup A streptokok kolonizasyonunun önüne geçildiği gösterilmiştir.⁸⁸ Ancak streptokokların 80 den fazla serotipi olduğu ve her bir suşun farklı immünolojik yanıtı açtığı düşünülecek olursa, bu kadar çok antijenik epitopun bir aşıda toplanması riskli olabilir.⁸⁹

AGBHS Taşıyıcılarının Tedavi Endikasyonları

Akut romatizmal ateş, akut glomerülonefrit salgınları veya invazif GABHS enfeksiyonları varsa, ailede veya kendisinde ARA öyküsü varsa, uygun antibiyotik tedavisine rağmen aile içinde gösterilen çok sayıda GABHS farenjiti varsa, GABHS enfeksiyonu aile içinde endişe yaratıyorsa, GABHS taşıyıcılığı nedeni ile tonsillektomi düşünülüyorsa tedavi edilir. En uygun ilaç klindamisindir.¹⁰⁵

Tablo 4: AGBHS taşıyıcılığı tedavisi¹⁰⁵

Antibiyotik	Doz	Yol	Süre
Klindamisin	20-30 mg/kg/g,3x (max 300 mg/doz)	Po	10 gün
PenisilinV/Rifampin	PenV 50 mg/kg/g,4x (max 2000 mg/g) Rifampin 20 mg/kg/g,tek doz	Po	10 gün
Amoksisilin- klavulanik asit	40 mg amok/kg/g,3x (max 2000mg)	Po	10 gün
PenisilinG/Rifampin	Benzatin pen G 27kg altı 600000Ü 27kg üstü 1200000Ü Rifampin 20 mg/kg/g,2x (max 600mg/doz)	IM, po	Pen G tez doz Rifampin 4 gün

Anti-inflamatuar Tedavi

Tanı kesinleşinceye kadar anti-inflamatuar tedavi kullanımı geciktirilebilir. Çünkü artrit bulgularını maskeleyebildiğinden, bu ilaçların erken başlanması tanıda karışıklığa yol açabilmektedir. Çok ağrısı olan hastalarda, hastalığın seyrini değiştirmeyen parasetamol kullanılabilir.¹⁰⁵ En sık kullanılan anti-inflamatuar ilaçlar; salisilatlar ve kortikosteroidlerdir. Semptomların kontrol edilmesi ve destek için kullanılır. Tedavi edici değildir.

Salisilat; poliartritte kullanılır. Kan seviyesi 20-25 mg/dl olacak şekilde verilmelidir. 12-24 saat içinde artrit bulgularında dramatik düzelme sağlanır. Salisilat 75-100 mg/kg/gün (en fazla 4 gr/gün) dört eşit dozda başlanır.¹⁰⁵ İki-üç hafta sonra doz 60-70 mg/kg/gün dozuna inilir ve tedavi 3-6 haftada kesilir. Serum salisilat düzeyi 25 mg/dl'de tutulmalı, 30 mg/dl'yi aşmamalıdır.⁸⁷

Kalp yetersizliği bulguları olmayan hafif karditli olgularda da salisilat kullanılır. Konjestif kalp yetersizliği bulguları olan orta ve ağır karditli hastalarda ise kortikosteroid kullanımı gerekir. Akut dönemde bu ilaçların kullanımı mortalite ve morbiditeyi azaltır, ancak sonraki kapak hastalığının gelişmesini önlediği gösterilememiştir.⁹⁹ Prednizolon 2 mg/kg/gün 4 dozda başlanır (maksimum doz: 60 mg/gün), 2-3 hafta kullanılır, 2-3 haftada azaltılarak kesilir. Steroid dozu azaltılırken tedavinin son haftasında, steroid kesilmesine bağlı rebound gelişmemesi için salisilat eklenir. Salisilat 75 mg/kg/gün 4 dozda başlanır ve 6 hafta devam edilir.¹⁰⁵

Salisilat kullanılmayan artritli olgularda naproxen 10-20 mg/kg iki dozda (KC toksisitesi yok), Tolmetin 20 mg/kg üç-dört dozda, İbuprofen 30-40mg/kg/gün dört dozda verilebilir. Yüksek doz iv metil prednizolon (Hindistan), intravenöz immünglobulin ve anti-TNF ilaçların kullanımı gibi tedavide yeni arayışlar devam etmektedir.¹⁰⁰

Destekleyici tedavi:

Fizik Aktivitenin Düzenlenmesi

Akut romatizmal ateşli her hastada yatak istirahati zorunludur. Sadece artriti olan hastalarda artrit bulguları ve akut faz reaktanları normale dönene kadar istirahat yeterlidir. Hastalar bu dönemde kardit açısından da yakından izlenmelidir. Mitral yetersizliğinin ilerlemesinde sol ventrikül basıncı ve hacminin rol oynadığı düşünüldüğünden kardit bulgusu olan her hastada en az dört hafta yatak istirahati gerekir.^{62,101} Eğer kalp yetersizliği bulguları varsa bu bulgular düzeline kadar istirahat zorunludur, sonraki dört hafta da aşırı aktivite kısıtlanmalıdır.

Tablo 5: ARA'lı Hastalarda Aktivite Düzenlenmesi^{62,101}

	Artrit	Hafif kardit	Orta kardit	Ağır kardit
Yatak istirahatı	1-2 hafta	2-3 hafta	4-6 hafta	2-4 ay
Evde istirahat	1-2 hafta	2-3 hafta	4-6 hafta	2-3 ay
Tam aktivite	6 hafta sonra	3 ay sonra	6 ay sonra	Değişken
Beden raporu	2 ay	1 yıl	Lise boyunca	Değişken

Kalp Yetersizliği Tedavisi

Kalp yetersizliği var ise tedaviye tuzsuz diyet ve kalp yetersizliğinde kullanılan digoksin, diüretikler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri de eklenebilir. Digoksin kullanımında dikkatli olunmalıdır, çünkü aktif miyokarditte toksisite gelişebileceği için digoksin dozunun düşürülmesi gerekir, ayrıca digoksin kalp bloklarına sebep olabilmektedir.⁹⁰

Semptomatik mitral ve/veya aort yetersizlikli semptomatik hastaların uzun dönem medikal tedavisi için bir etmen yoktur. Diğer sebeplerden dolayı cerrahi kontrendike olmadıkça bu hastalara cerrahi önerilmektedir.¹⁰⁴

Romatizmal MD ve hafif semptomu olan hastalar beta-blokör ve kalsiyum kanal blokörü gibi negatif kronotropik ajanlardan fayda görebilirler. Pulmoner venöz konjesyonlu vakalarda makul seviyede diüretik kullanımı ve/veya sodyum kısıtlaması faydalı olabilir. Belirgin stenoz ve semptomlularda perkütan balon valvuloplasti veya cerrahi etkili olabilir.

Semptomatik romatizmal AS için etkili bir ilaç tedavisi yoktur. Çocuklardaki konjenital AS tersine semptomatik kalsifik AS'un tedavisinde balon valvuloplastinin kullanımı sınırlıdır. Hasta cerrahi için kabul edilebilir değilse önerilmelidir. Diüretikler semptomatik hastada sınırlı bir önlem olarak kullanılabilir ama en uygun tedavi cerrahi komissurotomidir ve genellikle mitral kapak cerrahisi ile eşzamanlı yapılır.¹⁰⁴

Kore Tedavisi

Kore bulgusuyla gelen hastada, öncelikle streptokok enfeksiyonu varsa, eradikasyon için penisilin tedavisi verilmelidir. Korenin geçici bir durum olduğu çocuğun kendisine ve ailesine anlatılmalıdır. Çocuklar stresten uzak tutulmalıdır. Hafif olgularda diazepam veya fenobarbital, ağır olgularda klorpromazin veya haloperidol kullanılabilir. Bunların içinde en etkili ilaç haloperidoldür. Ancak ekstrapiramidal yan etkiler açısından dikkatli olunmalıdır. Haloperidol tedavisine 0,5 mg/gün dozunda başlanır, klinik yanıtı göre doz ayarlanır. Ağır vakalarda 5 mg/gün dozuna çıkılabilir. En çok tercih edilen diğer ilaç olan fenobarbital ise 15-30 mg, her 6-8 saatte bir uygulanır.⁹⁹ Kore tedavisinde, 15-30 mg/kg/gün dozunda valproik asitin de etkili olduğu gösterilmiştir.^{102,103} Tedaviyle genelde 2-3 hafta içinde iyileşme görülür fakat tedavi aylarca sürebilir. Sonuç olarak; tedavi seçeneği ve ilaç dozları hastaya göre farklılık gösterebilmektedir.

Cerrahi ve Kateter Tedavisi

Akut Kardit

Akut mitral yada aort yetersizlikli hastaların bazılarında enflamasyon zamanla gerileyerek düzelirken diğerlerinde medikal tedaviye cevap vermeyen inatçı yada ilerleyici kalp yetersizliği oluşur. Miyokardiyal disfonksiyondan değil de valvüler yetersizliğin asıl altında yatan problem olmasından dolayı valvuloplasti ya da kapak değişimi gibi cerrahi müdahaleler hayat kurtarıcıdır ve sonuçta kapak yapısının yenilenmesi ile belirgin klinik iyileşme sağlanır. Akut romatizmal MY'nin altında yatan asıl neden zayıf kapakçık koaptasyonu ile sonuçlanan annular dilatasyon ve kordal uzamadır. Cerrahi annuloplasti ve/veya kordal kısaltma uygulamaları iyi sonuçlar vermektedir.¹⁰⁴

Kronik romatizmal kapak hastalığı genellikle ilerleyicidir, cerrahi müdahale gerektiren kronik hemodinamik yüke sebep olur. RKH çocuklarda cerrahi müdahale için en uygun zamanın belirlenmesi genellikle zordur. Belirgin semptomların olması makul ve kabul edilebilir endikasyondur ama asemptomatik çocuklarda cerrahi müdahalenin zamanlaması kesin değildir. RKH'lı çocuklarda müdahalenin

zamanlamasına rehberlik edecek küçük bir veri ile valvuler kalp hastalıklı yetişkinlerde müdahale için rehberlerden bir çok tahmin yapılabilir.¹⁰⁴

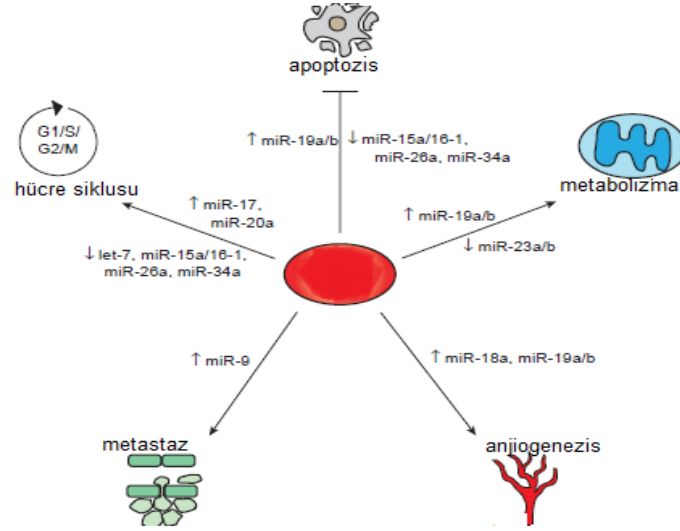
Endokardit Profilaksisi

Endokarditler RKH'nin önemli bir komplikasyonudur. Amerikan Sağlık Kurumu Rehberleri 2007 de revize edilmiştir, kardiyak tutulumu olanların düzenli dış kontrollerine gitmesi gereklidir. Protez kalp kapağı kullanan ya da kapak tamirinde protez materyal kullanılan ve daha önceden endokardit olanlarda antibiyotik profilaksisi önerilmektedir. Ancak, bu belirtiler olmayan hastalarda profilaksi gerekmemektedir. Hastalar kronik penisilin profilaksisi aldıkları için amoksisilin dirençli organizmaların gelişmesi olası olduğundan profilakside klindamisin, klaritromisin ya da azitromisin önerilmektedir.¹⁰⁴

MikroRNA'lar

İnsanlarda sayıları bini geçen, protein kodlamayan miRNA lar yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda, tek iplikçikli RNA molekülüdür.DNA'dan transkripsiyonu yapılan; ancak protein çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar hedef genin mRNA lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifade edilmesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir.^{123,124}

Genomun kodlanan genlerinin majör düzenleyicilerinden biri olarak tanımlanan miRNA'lar moleküler tıpta yeni tanısıl, izlemsel ve hedefe yönelik tedavi edici biyobelirteçlerin belirlenmesinde umut verici unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadır.¹²⁵ MiRNA'lar hedef genleri baskılar ve gelişim, farklılaşma, çoğalma, hücre ölümü, apoptozis gibi süreçlerde rol oynar. Ökaryotik hücrelerin normal birçok işlevlerinde yer aldıkları için miRNA'lardaki kusurlar başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Şekil 3)^{123,124,126,127}



Şekil 3: miRNA'nın rol aldığı hücresel işlevler¹²³

MiRNA'ların Yapısı ve Keşfi

MiRNA'lar genom üzerinde protein kodlayan intron ve ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan; ancak proteine translasyonu gerçekleşmeyen fonksiyonel RNA molekülleridir.¹³² 18-24 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli RNA molekül çeşididir ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Pri-miRNA isimli primer transkriptler işlenerek önce pre-miRNA isimli kısa sap-ilmik yapılara, daha sonra da fonksiyonel miRNA'ya dönüşürler. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir.

İlk miRNA, Lee ve arkadaşları tarafından 1993 yılında keşfedilmiştir. MiRNA terimi 2001 yılında kullanılmaya başlanmıştır.¹³³ Lee ve arkadaşları *C.elegans*'ın gen içeriğini incelemiş ve larva gelişiminin zamanlamasını kontrol eden lineage-4 genini tanımlamışlardır. Lineage-4 geninin; hiçbir protein kodlamamasına karşın, 22 nükleotid uzunluğunda bir çift küçük RNA'yı transkribe ettiğini rapor etmişler.^{134,135} Reinhart ve arkadaşları 2000 yılında *C. elegans*'ta lethal-7 olarak adlandırılan ve canlılığın gelişim basamaklarının düzenlenmesinde rol oynayan farklı bir miRNA keşfetmişlerdir. Lethal-7 insan türünde de korunmuştur ve önemli bir biyolojik fonksiyona sahip

olduğu düşünölmüştür.¹³⁶ Sonraki yıllarda çok hücreli organizmalarda lethal-4 ve lethal-7'ye benzer birçok küçük RNA molekölü keşfedilmiş ve miRNA'lar olarak isimlendirilmiştir.¹³⁷

MiRNA'ların Oluşumu

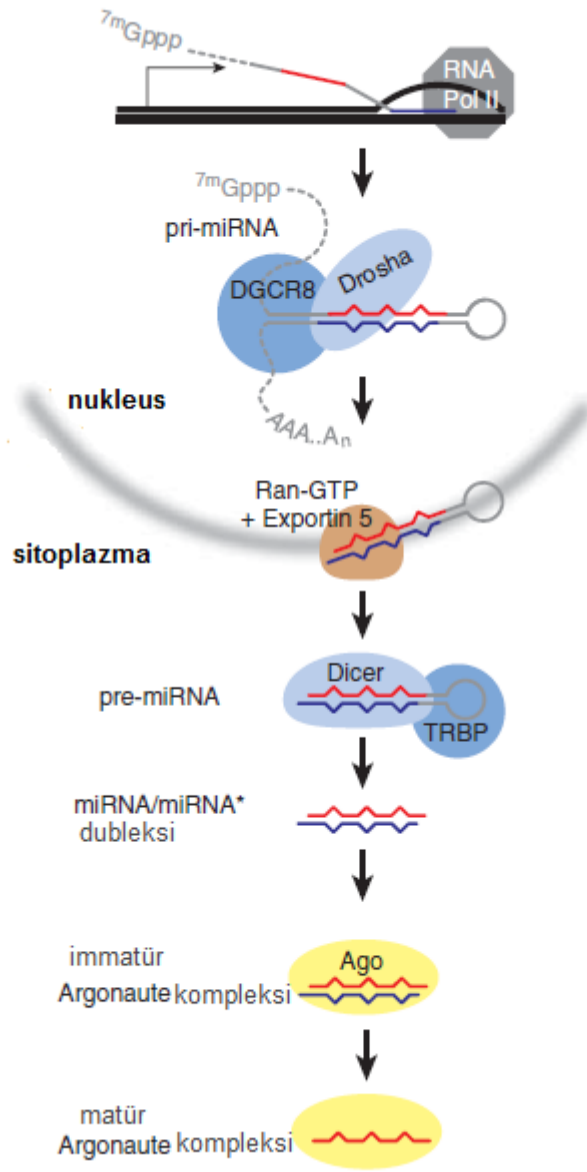
1. Adım: MiRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu

2. Adım: Pri-miRNA'ların nükleus içinde prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara dönüşümü

3. Adım: Sitoplazma içinde olgun miRNA oluşumu.¹³⁸

MiRNA'lar, pri-miRNA olarak RNA polimeraz enzimi aracılığıyla DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır. Çekirdekte RNAaz III enzim ailesinin bir endonökleazı olan Drosha (nükleaz) ve kofaktörü Pasha (DGCR8, çift iplikli RNA bağlayıcı protein) aracılığıyla pre-miRNA'ya dönüştürölür. Drosha ve Pasha'nın oluşturduğu komplekse mikroşilemci kompleks adı verilir.¹³⁹

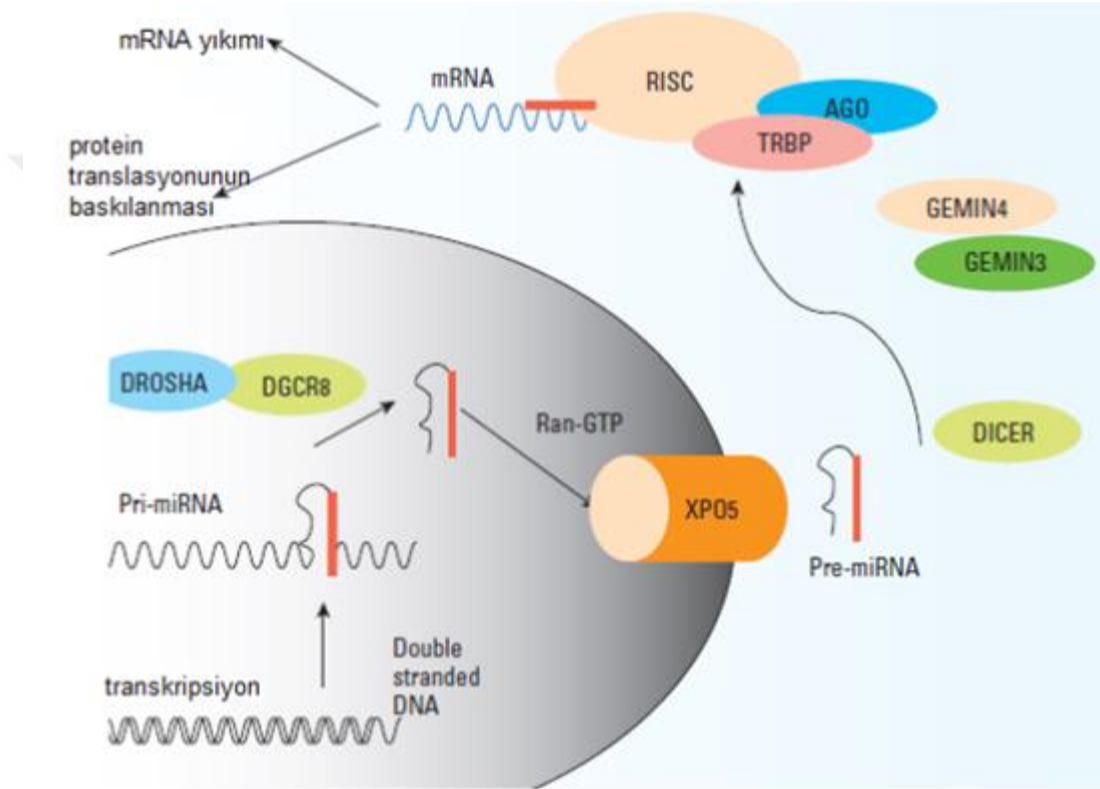
Pre-miRNA molekölü, exportin 5 (nüklear taşıma reseptörü) ve RAN-GTP (nüklear protein)'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır.¹⁴⁰ Sitoplazmada pre-miRNA'lar RNAaz III enzim ailesinden dicer adlı endonökleaz ile kesilerek çift zincirli, 18-24 nükleotid uzunluğunda miRNA dubleksine çevrilir.¹⁴¹ Dicer aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır.¹⁴² Dicer, pre-miRNA'nın sap-ilmliğini kestikten sonra miRNA dubleksinden sadece biri RISC kompleksine dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAaz olan Argonaute'un etkisiyle bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik, kılavuz iplik (guide iplik) olarak adlandırılır. Diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak RISC kompleksi tarafından sindirilir. MiRNA'lar aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına veya protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar (Şekil 4).¹⁴³



Şekil 4:miRNA oluşumu¹⁴³

MiRNA'ların Fonksiyonu

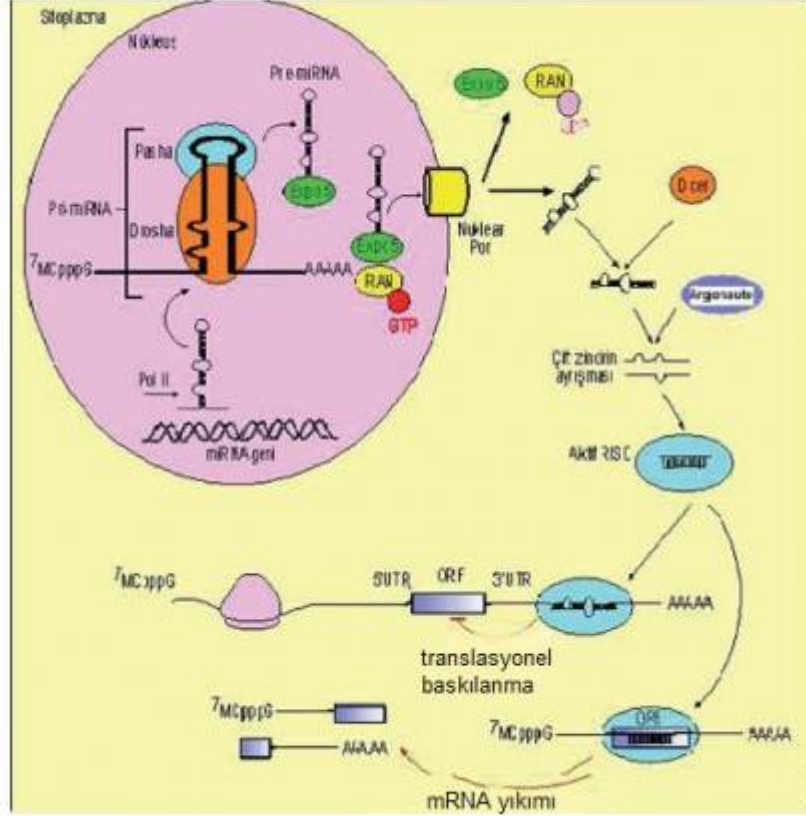
Olgun MiRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak, protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. MiRNA'lar kendi nükleotid dizilerini tamamlayıcı hedef genleri tanıma özelliğindedir. MiRNA, RISC ile kompleks oluşturur, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, sonrasında protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA yıkımına neden olur. (Şekil 5)¹³²



Şekil 5: MiRNA oluşumu ve fonksiyonu¹³²

MiRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (Untranslate Region-UTR) veya hedef mRNA'nın ORF (Open Reading Frame) bölgesine bağlanır. Bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl tamamlayıcı olduğuna bağlıdır. 3'UTR bölgesine bağlandığında; kusurlu, eksik tamamlayıcılıkla ve translasyonun baskılanmasıyla sonuçlanır. ORF bölgesine bağlanma ise kusursuz, eksiksiz tamamlayıcılığı gösterir ve Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır.²¹² miRNA'lar birden fazla mRNA

ekspresyonunu düzenleyebilir ve mRNA'ların her biri birden fazla miRNA tarafından hedeflenebilir (Şekil 6)¹⁴⁴



Şekil 6: miRNA biyogenezini¹⁴²

MiRNA'ların çoğu doku, hücre ve/veya hastalığa spesifik tarzda eksprese olduğundan onların ekspresyon paternleri altta yatan patofizyolojik olayları yansıtmaktadır. MiRNA'lar kalpte bulunan miyokard hücrelerinde hasar oluşumu sonrası dolaşıma salınır ve serum veya plazmada stabil formda saptanır. Dolaşan miRNA'ların tekrarlayan dondurma ve çözündürme olaylarına olan dayanıklılığı onları çeşitli insan hastalıkları için güçlü potansiyel biyomarker adayı yapmaktadır.^{145,146} İdeal bir biyomarker ilgilenilen hastalık ve klinik sonuç için yüksek duyarlılık ve özgüllükle birlikte kanda veya vücut sıvılarında sürekli ölçülebilir olmalıdır.

MiRNA'ların akut miyokard infarktüsü, kalp yetersizliği, koroner arter hastalığı, diabetes mellitus, inme, esansiyel hipertansiyon ve akut pulmoner emboliyi içeren kardiyovasküler hastalıklar için ideal biyomarker olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.^{147,148}

Kardiyovasküler hastalık, gelişmiş ülkelerde önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Kalpte ortaya çıkan patolojik süreç, kardiyak fonksiyonlar açısından önemli gen profillerinin değişen ekspresyonları ile ilişkilendirilmiştir. Kardiyak gen ekspresyonu ile ilgili mevcut bilgilerimizin çoğu, bu ekspresyonun transkripsiyon faktörlerinin gen ekspresyonunu aktive eden düzenleyici enhancer/promoter sekansları ile bağlantı kurduğu transkripsiyonel düzenleme seviyesinde kontrol edildiğine işaret etmektedir.¹⁴⁹ Kardiyak gen ekspresyonunun düzenlenmesi, bağımsız bir genin kalpte çok spesifik ekspresyon paternlerine yol açan birden fazla enhancer ile kontrol edildiği karmaşık bir süreçtir. MiRNAlar, posttranskripsiyonel seviyede başka bir katman daha ilave ederek kardiyak gen ekspresyonunun nasıl düzenlendiğine ilişkin anlayışımızı değiştirmiştir. Kardiyovasküler sistemdeki patolojik süreçlerde miRNA hakkında yakın zamanda bir takım çıkarımlar yapılmıştır ve kardiyovasküler hastalıkda miRNA'ların rolü ile ilişkili araştırmalar hızla gelişen bir alan haline gelmiştir.¹⁴⁹

Kardiyak fibrozis ve miRNA

Kardiyak fibrozis; miyokard infarktüsü, dilate-hipertrofik kardiyomiyopati ve kalp yetmezliği gibi çeşitli patolojik durumlardaki kardiyak disfonksiyonun gelişmesine önemli ölçüde katkı yapar ve kalpte hücre dışı matriks proteinlerinin uygunsuz birikimi olarak tanımlanabilir.^{180,181}

Fibroblasttan zengin olan miR-29 ailesinin çok sayıda kollajenler, fibrillinler ve elastinler dahil olmak üzere fibrozis oluşumunda rol oynayan birçok hücre dışı matriks ilişkili proteini kodlayan mRNAları hedef aldığı gösterilmiştir.¹⁸⁴ MiR-29, miyokard infarktüsü geçiren fare modellerinde enfarkt bölgesini çevreleyen sınır bölgesinde çok ciddi ölçüde baskılanmaktadır. miR-29'un downregülasyonunun bu RNA ların baskılanmasına karşı olduğu ve fibrotik yanıtları artırdığı tahmin

edilmektedir. Bu yüzden, miR-29'un upregülasyonunun miyokard infarktüsü için bir tedavi seçeneği olabileceği yönünde spekülasyonlar yapılabilir.

MiR-21, bir dizi kardiyak stres durumunda en güçlü şekilde upregüle olan miRNAlar arasında yer almaktadır.¹⁸⁴⁻¹⁸⁶ Son zamanlarda, Thum ve ark. miR-21'in yetmezlik bulunan kalpteki kardiyak fibroblastlarda upregüle edildiğini ve ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz/mitojen ile aktive edilen protein (ERK-MAP) kinaz sinyal yolağının negatif bir düzenleyicisi olan Sprouty homolog 1 (SPRY1) ekspresyonunu baskıladığını göstermiştir.¹⁸⁷ Kardiyak hasara yanıt olarak miR-21'in upregülasyonunun ERK-MAP kinaz sinyalini artırdığı ve böylece fibroblast proliferasyonuna ve fibrozise yol açtığı gösterilmiştir. Fosfataz ve tensin homologunun (PTEN) da kardiyak fibroblastlardaki miR-21'in doğrudan hedefi olduğu gösterilmiştir.¹⁸⁸ Daha önceki raporlar PTEN'i matris metalloproteinaz-2 (MMP-2) ekspresyonunun bir baskılayıcısı olarak karakterize etmektedir.^{189,190} Kalpteki I/R, enfarkte alandaki kardiyak fibroblastlarda miR-21'i indüklemektedir. Bu yüzden, I/R ile indüklenen miR-21 PTEN fonksiyonunu sınırlandırmakta ve kardiyak fibroblastlarda Akt yolağının aktivasyonuna ve MMP-2 ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır.

Fibroziste anahtar rol oynayan bir molekül olan bağ doku büyüme faktörünün (CTGF), her ikisi de çeşitli patolojik hipertrofi ve kalp yetmezliği modellerinde tutarlı bir şekilde downregüle olan iki miRNA tarafından düzenlendiği gösterilmiştir; miR-133 ve miR-30.¹⁹¹ Yazarlar miR-133 ve miR-30'un kardiyak hastalık sırasında CTGF'nin upregülasyonu ile ters korelasyon gösterecek şekilde downregüle olduğunu yazmaktadır. Bu miRNA ların aşırı ekspresyonu veya inhibisyonuna olanak sağlayacak in vitro deneyler doğrudan CTGF mRNA'nın 3'UTR bölgesi ile etkileşerek CTGF ekspresyonunu etkin bir şekilde baskılamaktadır. Bu veriler miRNA ların kardiyak fibroziste önemli düzenleyiciler olduğuna ve yapısal kalp hastalıkları ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir.

Anjiogenez-Vasküler Hastalıklar ve miRNA

Yakın zamanda, endotelial hücre fonksiyonları ve anjiogenezisi regüle eden birkaç spesifik miRNA tanımlanmıştır. Pro-anjiyogenik miRNA'lar let7f ve miR-27b¹⁹², miR-17-92 kümesi,¹⁹³ miR-126^{194,195}, miR-130a¹⁹⁶, miR-210 ve miR-378^{197,198}i içermektedir. MiR-15/16,^{199,200} miR-20a/b¹⁹⁹, miR-92a²⁰¹ ve miR-221/222^{202,203} içeren miRNA'lar anti-anjiyogenik etkiler göstermektedir.

Aktive endotelial hücrelerden salınan adezyon molekülleri inflamasyon bölgesinde lökosit trafiğini regüle etmede önemli bir role sahiptir. Dinlenme halindeki endotelial hücreler normalde adezyon molekülü eksprese etmezler; ancak, sitokinler endotelial hücreleri aktive ederek vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) gibi moleküller sentezine ve endotelial hücrelere lökosit yapışmasına aracılık ederler. Harris ve ark. endotelial hücrelerin predominant olarak miR-126 eksprese ettiğini ve bunların da VCAM-1 ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.²⁰⁶ Endotelial hücrelerin miR-126 azaltan bir oligonükleotid ile transfeksiyonu TNF- α 'nın stimüle ettiği VCAM-1 ekspresyonunu arttırdığı ve endotele lökosit yapışmasını sağladığı söylenebilir.

Yakın zamanda, Ji ve ark. balon hasarından sonra miRNA'ların düzensiz bir biçimde vasküler duvarda eksprese edildiğini belirlemişlerdir.²⁰⁷ Antisens ilişkili depleksiyonla düzensiz eksprese edilen miR-21'in modülasyonu yeni intimal lezyon formasyonunda anlamlı negatif etki yaratmıştır. Ayrıca miR-21 ilişkili sellüler etkilerde Bcl-2 ve PTEN'in de bulunduğunu gösterdiler. Aynı grup sıçan karotid arterlerinde anjiyoplastiden sonra miR-222 ve miR-221 ekspresyon seviyelerinin yükseldiğini belirlemiştir.²⁰⁸ Bunlardan başka, miR-221 ve miR-222 ilişkili vasküler düz kas büyümesinde (VSMC) p27 (Kip1) ve p57 (Kip2) hedef genler olduğu bulunmuştur. MiR-221 ve miR-222 ile ilgili son bulgu da hem in vitro hem de in vivo olarak VSMC proliferasyonunun azalması olarak görülmüştür. Başka bir çalışma ise anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT1R) ve miR-155'in endotelial hücrelerde ve VSMC'lerde koeksprese edildiğini ve bu miR-155'in AT1R'in ekspresyonunu translasyonel olarak azalattığını göstermiştir.²⁰⁹ AT1R gen yüksek derecede polimorfik bulunmuştur. Özellikle tek nükleotid polimorfizmi (SNP), genin pozisyon 1166'da 3'-UTR kısmında A/C transversiyonunun olduğu gösterilmiştir. +1166 allelinin yükselmiş frekansı esansiyel hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve miyokard infarktüsü ile ilişkilendirilmiştir.^{210,211} Bu durumun da muhtemelen AT1R artış aktivitesi ile ilişkili

olduğu düşünölmüştür. İlginç olarak, +1166 C-allelinin mevcudiyeti AT1R'nin 3'-UTR kısmıyla baz-çiftleşmeli tamamlanmayı sekteye uğratmaktadır ve sonuç olarak insan AT1R'sinin miR-155 ile translasyonel represyonunu azaltmaktadır.²⁰⁹ MiR-21, miR-155, miR126, miR-221 ve miR-222 vasküler hastalık ve damar remodelinginde önemli modölatörler olabileceği düşünölmektedir.

Konjenital Kalp Hastalığı ve miRNA

Kardiyovasküler gelişim süreçlerindeki gen ekspresyonlarında miRNA'ların çok önemli roller üstlendikleri bilinmektedir. Çoklu hücre serilerinden üç boyutlu organların gelişimine ve vasküler sistemle bağlantılarının gelişimine kadar birçok süreçte miRNA'lar çok önemlidir.²¹⁵ Kardiyogenez ve erken embriyolojik patern gelişim süreçlerinde miRNA'ların rolleri, her üç germ tabakasından alınan doku örneklerinde miRNA'ların gösterilmesi ile kanıtlanmıştır.²¹⁶ MiRNA'ların bu rolleri ayrıca, bazı miRNA üretim defekti olan farelerde ilgili gen ekspresyonlarının değiştiğinin gösterilmesi ile de doğrulanmıştır.²¹⁷

Kalp gelişiminde hayati rol üstlendiği bildirilen ilk miRNA; miR-1'dir.²¹⁸ Embriyonik kalpte miR-1'in aşırı üretimi, kardiyomiyosit proliferasyonunu inhibe eder ve ventriküler miyokardın genişlemesini önler, böylece kardiyomiyositler yeterince üretilmediği, kas kitlesi yeterince gelişemediği için ölüme kadar giden sonuçlar ortaya çıkar.²¹⁸ Bununla bağlantılı olarak, miR-1 içeren embriyolar enjekte edildiğinde bir Afrika kurbağası türü olan "Xenopus" kalbinin de durduğu saptanmıştır.²¹⁹ Yapılan çalışmalarda miR-1-2'nin hedeflenmiş delesyonu ile embriyoların yarısında (%50) ölüm meydana gelmiştir. Bu ölümün sebebi olarak ventriküler septal defekt suçlanmıştır. Hayatına devam eden mutant farelerin büyük bölümünün de ilerleyen dönemlerde gelişen iletim sistemi defektlerinden ötürü öldükleri bildirilmiştir.²²⁰

MiRNA işlenmesi için gerekli olan enzim Dicer'dir. Bu Dicer enziminin delesyonu ile ventriküler miyokard dokusu yeterince gelişemez ve 12.5 embriyonik günde kardiyak yetmezlik gelişerek ölüm meydana gelir.²²¹ Nöral krest hücrelerinin faringeal ark ve poşlara doğru göçünde meydana gelen değişimler, birçok gelişimsel defektin meydana gelmesine sebep olmaktadır. Ayrıca, kardiyovasküler ve nöronal-kraniyofasiyal defektlerin yani Di-George sendromu, Noonan sendromu, LEOPARD sendromu, kardiyofasiyo-kutanöz sendrom ve Costello sendromu gibi sendromların

arasında fenotipik üstüste binme (overlap) gözleendiği de bildirilmiştir.^{222,223} Nöral krest hücrelerinde Dicer'in hedeflenmiş delesyonu sonucunda, birçok şiddetli kraniyofasiyal ve kardiyovasküler defekt meydana gelmektedir. Bu defektler, insanın konjenital nöro-kraniyofasiyal-kardiyak defektlerinin özelliklerini taşımaktadır.²²⁴

MiR-133a-1/miR-1-2 ve miR-133a-2/miR-1-1 genleri, embriyonik hayattaki 8.5 günden erişkin çağa kadar ventriküler miyokard ve interventriküler septumdan eksprese edilir.^{218,225} MiR-133a-1 ya da miR-133a-2 eksikliği olan farelerde belirgin kardiyak anomaliler gözlenmez ancak geç embriyonik ya da neonatal dönemde her iki gende delesyon meydana gelen farelerde, ventriküler septal defekt ve odacık dilatasyonlarına bağlı olarak ölüm meydana gelmektedir.²²⁶ MiR-17~92 küme genlerinin hedefli delesyonu yapılan farelerde de benzer kardiyak anomalilerin meydana geldiği gösterilmiştir.²²⁷ Gestasyonel 12-14.haftalarda fetal insan kalp örneklerinde MiR-196a bulunmuştur.²²⁸ Bu miRNA, kardiyak septalanma, akım yolunun oluşumu ve kalp kapakçıklarının gelişimi gibi süreçlerde gerekli olan HOXB8-Shh sinyallerinin düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir.²²⁹

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, konjenital siyanotik kalp hastalıklarının bir tanesinde de miRNA'ların salındığı saptanmıştır.²³⁰ Non-sendromik Fallot tetralojisi olan bebeklerin sağ ventriküler miyokardında miRNA'ların ekspresyonu ile ilgili çalışmalar, bu hastalarda toplam 61 miRNA'nın ekspresyonunda önemli değişimler geliştiğini ortaya koymuştur. Değişen miRNA'ların potansiyel hedefleri olan gen ağları, kardiyak gelişim açısından önemlidir.²³⁰ İnsan fetal tek-ventrikül kardiyak dokularından yapılan miRNA profillemesinde, kontrol grubuna kıyasla toplam 48 miRNA ekspresyonunda değişim meydana geldiği; 38 miRNA azalırken 10 miRNA'da ise artma meydana geldiği gösterilmiştir.²³¹ MiRNA'ların, sendromik konjenital kalp hastalıklarında, örneğin en sık konjenital kalp defektine yol açan Down sendromlu hastalarda da değiştiği belirlenmiştir.²³² İnsanların 21.kromozomunda 5 ayrı miRNA'da değişim olduğu gösterilmiştir. Bunlar miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155 ve miR-802'dir. Bu miRNA'lar 21.kromozom üzerinde eksprese olduklarından dolayı, ekstra 21.kromozom taşıyan Down hastalarında bu miRNA'ların fazla salındığı belirlenmiştir.²³³ DiGeorge sendromu, konjenital kalp hastalığının sık görüldüğü bir başka sendromdur. DiGeorge sendromuna neden olan gen defekti, 22.kromozom üzerindeki 8.bölgenin delesyonu (22q11.2) olup, bu bölgenin normal hastalarda RNA-ilişkili sessizleşme kompleksini kodladığı bilinmektedir. MiRNA ekspresyonunun pertübasyonu, farklı miRNA hedeflerini etkileyerek bu hastalığı

gen dozaj duyarlılığına katkı sağlayabilir. Bu loküsün yetersizliği, böyle bir olasılığı daha da yükseltmektedir.²³⁴ Sonuç olarak Down ve Di George sendromu gibi iki önemli sendromda görülen konjenital kalp defektleri ve ilişkili letal kardiyovasküler hastalıkların, bazı spesifik miRNA'lerde görülen değişimle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu miRNA'lar: miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155, miR-802 ve RNA-ilişkili sessizleşme kompleksidir.

Kardiyometabolik kümeler ve miRNA

Günümüzde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, obezite ve tip 2 diyabete yatkınlık yaratan durumların başında miRNA'ların da dahil olduğu genetik komponentlerin çok önemli olduğunu ve tedavi stratejilerinin bunlara göre geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir. miRNA'ların glikoz ve lipid metabolizmasında düzenleyici rolleri olduğu ve obeziteye yol açan süreçlerden adiposit gelişimi, proliferasyonu, farklılaşması, insülin etkisi ve yağ metabolizması gibi nerdeyse bütün süreçlerde aktif şekilde rol oynadığı düşünülmektedir.^{235,237}

Invitro hücre çalışmalarında; adiposit gelişiminin farklı aşamalarında farklı miR'lerin anahtar roller üstlendiği ve adipogenez'in evreye özgü düzenlenmesinde çok önemli görevler üstlendikleri gösterilmiştir. İnsanlarda multi-potent mezenkim kök hücrelerinde adipojenik farklılaşmanın erken evrelerinde, miR-21'in geçici olarak arttığı,²³⁸ buna karşılık matür adipositlerde ise miR-20 düzeylerinin arttığı bildirilmiştir.²³⁹ MiR-20'nin fazla salınması, lipid damla formasyonunun oluşumunu hızlandırır ve 3T3-L1 hücrelerinde adiposit hipertrofinin gelişimine katkı sağlar.²³⁶ Adiposit farklılaşmasında benzer etkiler, miR-27b'nin azalması ile de ortaya çıkmaktadır.²⁴⁰ MiR-15, adiposit farklılaşmasına katkı sağlayan bir diğer faktör olup; miR15-a inhibisyonu ise, pre-adiposit hücre çapını azaltmaktadır.²⁴¹

MiR-103 ve onunla yakın ilişkili olan miR-107, obez farelerin karaciğerlerinde artmıştır. Farelerin miR-103/107 antagomiR'leri ile tedavi sonucunda obezite oranlarının azaldığı saptanmıştır.²⁴² MiR-103 de, insan pre-adiposit farklılaşması süreçlerinde artış göstermektedir ve artmış trigliserid düzeyi gibi adipogenik uyarılara yanıtta miR-103 düzeyinin artabildiği bildirilmiştir. MiR-103/107'nin hedeflerinden biri de caveolin-1'dir. Caveolin-1 ekspresyonunun miR-103/107 tarafından azaltılması sonucunda, insülin reseptörleri inhibe olur, AKT aktivitesi

azalır, glikoz alımı da azalır. Tüm bunların sonucunda kaveolin-1'in azalması, insülin duyarlılığını azaltmaktadır. MiR-103/107 sisteminin diğer hedef yolakları ise, asetil-koA ve lipid metabolizması enzimleridir.²⁴³ Bu miR'ler, hiperlipidemi ve obezite tedavisi açısından iyi adaylardır çünkü direkt bu miR'lere yönelik karaciğer-ilişkili antagomiR'ler kullanılabilir. Bütün bu yaklaşımlara benzer şekilde, bu tür tedavilerin hedef dışı sonuçları da gözlenebilir ve bu sonuçlar çeşitli yan etkilere neden olabilir. Bu nedenle bu hastalarda gözlenebilecek yan etkilerin güvenilirliği açısından, uygun prelinik modeller üzerinde testlerin yapılması önerilmektedir.

MiR'ler, adipoz dokunun büyümesi ve farklılaşmasının hem artırılmasında hem de inhibe edilmesinde rol oynayabilmektedir. Örneğin, pre-adipositlerde miR-27a'nın aşırı salınımı, adiposit farklılaşmasını baskılar,²⁴⁴ bunun olası sebebi PPAR γ represyonudur. Bilindiği üzere PPAR γ , adipojenik genler için bir transkripsiyon faktörüdür.^{237,245} Obez farelerin matür adipositlerinde miR-27a ekspresyonu, zayıf farelere kıyasla azalmıştır. Bu bulgu, adiposit hipertrofisi için miR-27a'nın azalması gerektiğine işaret ediyor olabilir.²³⁸ Adipogenez için bir diğer potansiyel inhibitör ise miR-448'dir. miR-448, bir transkripsiyon faktörü olan Krueppel-benzeri faktör 5-i repress eder²⁴⁶ ve bu faktör de epidermal büyüme faktörüne yanıt elementini bağlayan bir nükleer proteindir.²⁴⁷

Obeziteye ek olarak metabolik sendromun bir diğer önemli komponenti hiperglisemidir. Hipergliseminin de miRNA'lar tarafından önemli ölçüde düzenlendiği bilinmektedir.²⁴⁸ MiRNA'lar, insülin salınım ve sekresyonunu önemli ölçüde düzenlerler, böylece hedef dokuların duyarlılığı etkilenmiş olur.²⁴⁹ Spesifik olarak pankreatik adacık hücrelerine özgü olan miR-375, miR-124a ve let-7b ile birlikte, beta-hücre fonksiyonlarını düzenleyerek, özellikle de insülin-içeren veziküllerin eksositoz'u ile kanda glikoz dengesinin düzenlenmesinde çok önemli roller üstlenirler. Pankreas adacık beta-hücrelerinde hem MiR-124a hem de let-7b aşırı artan oranlarda eksprese edilmektedir. MiR-30d, insülin transkripsiyonunu etkiler ve mitojen-aktive protein-4 kinaz üzerinden, proinflamatuvar sitokinlerin vereceği olası hasara karşı beta-hücre fonksiyonlarını korur.²⁵⁰ Sonuç olarak hiperinsülinemi, artmış yağ deposuna ve doku ile organlarda yağ depolanmasının artışına sebep olur. MiR-33a ve MiR-33b, metabolik sendrom riskinde görevli üç ana metabolik yolağı düzenlemektedir. Kendi konak genleri ile uyum içerisinde, sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein transkripsiyon faktörlerinin, miR-33a ve b, denge kolesterol metabolizması, yağ asidi oksidasyonu ve insülin sinyali ile etkileşerek

çalışmaktadır.²⁵¹ Metabolik sendrom tedavisinde ve prevelansının azaltılmasında temel amaç; koroner kalp hastalığının gelişimini önlemektir ve bu amaçla ileride yapılacak çalışmalarda miR-33a ve miR-33b özel çalışmaları hakeden moleküllerdir.

İnsülin direnci, hiperlipidemi ve hiperglisemi gibi metabolik bozukluklar; bazı miRNA'lerde meydana gelen disregülasyonlarla beraber seyretmektedir. Bu durumlar; obezite, metabolik sendrom gibi tablolara yol açacak sekonder miRNA'lari ve bu miRNA'ların hedeflerini de bozarak, kardiyovasküler hastalık riskini daha da arttırmaktadır. Birçok genin pozitif ve negatif düzenlenmesi sürecinde bu miRNA'lar rol oynamaktadır ve bu özellikleri ile metabolik sendromun global supresyonunda çekici hedefler haline gelmektedirler.

Kalp Yetmezliği ve miRNA

MiRNA'ların kalp yetmezliğinde hem patogeneze hem de progresyonda rol oynadıklarına ilişkin kanıtlar, yakın zamanda yapılan çalışmalarla da ortaya konmuştur²⁵² ve miyosit hipertrofisi, kardiyomiyosit apoptozisi, interstisyel fibrozis, azalmış kapiller dansite ve immün sistem aktivasyonu gibi konularda miRNA'ların rolü olduğu gösterilmiştir. Her ne kadar bazı miRNA'lar spesifik fonksiyonlara sahip olsa da (örneğin miR-126 sadece endotel hücrelerinde işlev görse de), diğer miRNA'lar yaygın şekilde salınır ve birçok hücre tipinde gen ekspresyonunu düzenler.²⁵²

Kalp yetmezliği olan, olmayan ve fetal insan kalp dokularındaki miRNA ekspresyonunu karşılaştıran yeni çalışmalarda; insanlardaki kalp yetmezliğinde gen ekspresyon defektlerinin bir özelliğinin de fetal miRNA programının reaktivasyonu olabileceği ifade edilmiştir.²²⁸ Spesifik miRNA'ların ekspresyonu, kalp yetmezliği olan hastaların miyokard dokusunda değişmiş düzeydedir. Bu özgün miRNA'lardan miR-1, miR-29, miR-30, miR-133, ve miR-150'nin düzeyi kalp yetmezliğinde azalırken, miR-21, miR-23a, miR-125, miR-146, miR-195, miR-199, ve miR-214 düzeyleri ise artmıştır.^{253,254} İlginçtir ki kalp yetmezliği sürecinde artan ve azalan miRNA'lar, kardiyomiyosite-spesifik Dicer enziminin çıkarıldığı farelerde de benzer şekilde artıp azalmıştır, bu durumda kardiyomiyositlerde normalde yüksek düzeyde ekspresyon olduğunu düşündürmüştür. Dicer-çıkarılmış kalplerde kontraktıl proteinlerin düzeyi ciddi oranda azalmakta ve kontraktıl yetersizlik meydana gelmektedir. Bu nedenle miyokardiyal gelişim ve maturasyon süreçlerinde miRNA'ların aşikar ve önemli rolleri

mevcuttur. Bu miRNA'ların defektif olması halinde ise konjestif kalp yetmezliği açısından ciddi risk ortaya çıkmaktadır.²⁵⁵ Etki mekanizması yönünden, adaptif ve mal-adaptif kardiyak remodeling süreçlerinde rol oynayan genlerin birçoğunun, miRNA'lar tarafından düzenlendiğine dair birçok kanıt mevcuttur.²⁵⁵ Örneğin; yumuşak doku büyüme faktörünün hedefi olduğu bildirilen miR-17~92, aynı zamanda kalpte de, kalp yetmezliği sürecinde remodeling gelişimi ile ilişkilendirilmektedir.^{256,257} Yumuşak doku büyüme faktörü, bir matrix-selüler protein olup birçok biyolojik süreçte (hücre adezyonu, göçü ve proliferasyonu gibi) rol oynamakta, ayrıca inflamasyon ve fibrozisin düzenlenmesinde de kritik roller üstlenmektedir. Kalp yetmezliğinin patogenezinde, inflamasyon-ilişkili başka miRNA'ların da rol oynadığı düşünülmektedir. Bunu kanıtlayan bir diğer bulgu da, farelerde kalp yetmezliği sürecinde makrofaj-kaynaklı miR-155 ekspresyonundaki artıştır. Bu artış, kalp yetmezliğinin immünpatogenezinde non-kardiyomiyosit-kökenli miR-155'in de rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir.²⁵⁸ Düşük let-7i düzeyleri de kötü klinik sonuçlarla ilişkilendirilmektedir.²⁵⁹ Çok yakın zamanda elde edilen yeni verilere göre miR-22, kalsiyum dengesinde bir integratör gibi davranmakta ve kalpteki stres süreçlerinde ise miyofibriler protein gibi görev almaktadır. Böylece miR-22'nin anlaşılması, kalp yetmezliğinin altta yatan mekanizmalarına da ışık tutacaktır.²⁶⁰ MiRNA ekspresyonlarındaki değişimler, sağ ventrikül remodeling süreçlerinde ve gen düzenleyici yollarda da gözlenmektedir. Bu değişimler aynı zamanda sağ ventrikül hipertrofisine ve sağ ventriküler yetmezliğine de neden olmaktadır.²⁶¹ Bu çalışmadaki ilginç gözlemlerden biri de şudur: sağ ve sol ventriküldeki miRNA'ların düzenlenmesi çeşitli farklılıklar göstermektedir. Sağ ventrikül hipertrofisi/sağ ventrikül yetmezliği durumunda artan miRNA'lar: MiR-34a, miR-28, miR-148a, ve miR-93 iken; sol ventriküler hipertrofil/sol ventrikül yetmezliği durumlarında bu miRNA'lar ya değişmez, ya da azalır. Bu nedenle, bahsi geçen miRNA'lardaki değişimlerin, sağ ventrikül hipertrofisine ve dolayısıyla kalp yetmezliğine zemin hazırlamada olağan şüpheli olduğu düşünülmektedir.²⁶¹

MiR-21, kalpteki birçok hücre tipinde gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Fibroblast hücrelerinde profibrotik olan MiR-21, kardiyomiyositlerde anti-apoptotik, endotel hücrelerinde anti-anjiyojenik, immün hücrelerde ise anti-inflamatuar rol üstlenmektedir. MiR-21'in bu etkileri ortaya çıkarmasında, direkt hedefleri olan PDCD4 (fosfataz ve tensin homolog, anti-inflamatuar), SMAD7, Spry1 (sprouty

homolog 1), PTEN, RhoB (ras homolog gen ailesi üyesi-B) ve FasL (fasligand) sorumlu tutulmaktadır.²⁵²

Kalp yetmezliğinde miRNA'ların belirlenmesi; yeni tedavilerin geliştirilmesi ve kalp yetmezliğini gen tedavisi ile tedavi etmeye yönelik miR/antagomiR kombinasyonlarının geliştirilebilmesi adına önemlidir. Yetmezliği olan kalpte SERCA2a gen tedavisinin, sodyum-kalsiyum değişici-1 (NCX1)) üzerinden kardiyak fonksiyonları düzelterek, Akt/FoxO3A gibi yolakların da katkısıyla, miR-1 ekspresyonunu düzeltildiği gösterilmiştir.²⁶² Bütün bu bulguları destekleyen birkaç çalışmada, miR-1'in kardiyak hipertrofi ve dekompanse kalp yetmezliğine karşın koruyucu roller üstlendiği de gösterilmiştir.^{263,264} Erişkin kalp yetmezliği hastalarında gen tedavisi halen deneme aşamasındadır ancak miRNA-aracılı tedavilerin pediatrik kalp yetersizliği hastalarında yararlı ve uygulanabilir olup olmadığının incelenmesi gerekmektedir.

Miyokardit ve Kardiyomiyopati'de miRNA

Miyokarditler çocuklarda kardiyak disfonksiyonun ciddi sebeplerinden biridir²⁶⁹ ve kronik dilate kardiyomiyopati ile sonuçlanarak, etkilenen çocuklara %20'ye varan oranlarda ölüme yol açmaktadır.²⁶⁵ Hastalığın patogenezi iyi anlaşılabilmiş değildir, morbidite ve mortalite oranları oldukça yüksektir ve günümüzde prognoz üzerine iyi etkili tedavi stratejileri oldukça azdır. Sadece son dönemde yapılan çalışmalarda, viral miyokardit patogenezinde ve bu hastalığa yatkınlıkta miRNA'ların rol oynuyor olabileceği ifade edilmiştir. MiRNA'ların viral miyokardit patogenezinde, muhtemelen iyon kanalı protein ekspresyonu ve kardiyotropik virüslere verilen immün yanıtlar üzerinden rol oynadığı düşünölmektedir.

MiR-1, miyokarditlerle majör rol oynamaktadır. MiR-1 viral miyokarditlerde tipik olarak yükselmekte ve Cx43'ü suprese etmektedir.²⁶⁶ Ventriköler miyokardiyum dokusunun gap-junction kanallarını oluşturan esas protein olan Cx43, bitişik kardiyak miyositler arasında elektrik kavrama ve iletişimi sağlar.²⁶⁶ Cx43'e etki eden miR-1, böylece viral miyokarditlerde iyon kanal proteinlerinin ekspresyonunu düzenleyebilmektedir. Anti-miR-1 (AmiR-1) ve AmiR-2 için, Coxsackie virüs B3 miyokarditinde antiviral aktivite saptanmıştır.²⁷⁰ Coxsackie virüs B3 enfeksiyonu ve viral miyokarditlerin tedavisinde pRNA teknolojisinin uygulanması ile ileride bu

hastalarda RNAi-bazlı ilaç tasarımı gibi bir sistemin geliştirilmesi mümkün olabilecektir. İnflamatuar miR-155 de, akut miyokardit hastalarında artmıştır. Bu da, kalpteki viral enfeksiyon yanıtında inflamatuvar yanıtları düzenlemektedir, potansiyel bir tedavi hedefi olarak da kabul görmektedir.

Hipertrofik ve Dilate Kardiyomiyopatide miRNA

Kardiyomiyosit integrasyonunda miRNA'ların anahtar roller üstlendikleri ve miRNA'lardaki bozuklukların, dekompanse hipertrofik kardiyomiyopatiye, hatta dilate kardiyomiyopatiye ilerlemesine yol açabildiği düşünülmektedir.²⁶⁷ Hipertrofik büyüme ve miyosit hücrelerindeki genişleme sonucunda dilate kardiyomiyopati, ardından da kalp yetmezliği geliştiği; miR-195 aşırı salınımı²⁶⁸ ve miR-133'ü çıkarılmış²²⁶ fare modellerinde de ortaya konmuştur. Kardiyak kontraktıl proteinlerde bozulma ve derin sarkomerik bozuklukların da hızlıca dilate kardiyomiyopatiye ilerleyişe sebep olduğu, Dicer enzimi çıkarılmış fare modelleri üzerinde kanıtlanmıştır.²²¹

MiRs-142-3p ve -5p, kültürlenmiş kardiyak miyositlerde, serum-kaynaklı büyüme faktörleri tarafından repress edilir ve bu durum, in vivo ortamdaki kardiyak hipertrofiye benzer etkiler ortaya çıkarmaktadır. MiR-142'nin azalması, adaptif hipertrofi için kritik öneme sahiptir ve bu sayede, hemodinamik strese karşı gelişen kardiyak büyüme yanıtında, sitokin-ilişkili survive sinyallerini yine miR-142 düzenlemektedir. Ayrıca miR-142'nin sitokin sinyallerini düzenlemede genel inhibitör olduğu ve miyokard fonksiyonunu inhibe ettiği; olasılıkla bunu gp130'u hedef alarak, alfa-aktinin ekspresyonunu azaltmak suretiyle yaptığı bildirilmiştir.²⁷¹ MiR-142 ayrıca, nükleer faktör kappa-B yolağının birçok komponentini de repress eder, böylece miyokard dokusundaki immün yanıtlar için kritik bir düzenleyici görevi üstlenir.²⁷¹

Dilate kardiyomiyopati hastalarında let-7i, miR-126 ve miR-155 düzeylerinin, kontrol grubuna göre endomiyokard dokusunda azaldığı gösterilmiştir.²⁵⁹ Azalmış let-7i düzeyleri, spesifik olarak dilate kardiyomiyopati hastalarında kötü prognoz ile ilişkilidir. Benzer şekilde miR-208'in de dilate kardiyomiyopati hastalarda prognoz açısından iyi bir gösterge olabileceği düşünülmektedir.²⁷² Hipertrofik kardiyomiyopati hastalarında ise, miRNA'ların farklı bir panelinin görev aldığı düşünülmektedir.²⁷³ Friedreich ataksisi ile birlikte kardiyak hipertrofisi olan hastalarda²⁷⁴ anjiyotensin 2 reseptör bölgesinde, miR-155 bağlayan bölgelerde polimorfizm meydana geldiği; tip 1

gen promoter bölgesinin hipertrofik fenotip gelişimine katkı sağlıyor olabileceği düşünülmüştür.

Post-transkripsiyonel düzeyde miyokardit ve ilişkili kardiyomiyopatilerde miR'lerin rolleri, düzenlenme şekilleri ve hedefleri ile ilgili yapılacak acil çalışmalara ihtiyaç vardır, bu sayede yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve bu henüz tam anlaşılammış hastalık durumlarının üstesinden gelinmesi mümkün olabilecektir.

Aritmi ve miRNA

Atriyal fibrilasyon (AF) çocuklarda nadirdir ancak miRNA'nın AF'deki rollerini çalışılan birçok çalışma mevcuttur. AF hastalarında düzeyi en çok azalan miRNA miR-1'dir. Buna bağlı olan Kir2.1 subunitlerinde artış meydana gelmektedir ve AF elektriksel remodeling'inin terminal fazında kısalma meydana gelerek AF'ye yatkınlık oluşmaktadır.²⁷⁵ MiR-328 düzeyi ise AF hastalarında artmaktadır ve en çok L-tipi kalsiyum kanal genlerini hedef aldıklarından ötürü elektriksel remodeling gelişimine katkı sağlamaktadırlar.²⁷⁶ MiR'ler ayrıca mitral darlığı olan AF'li ve AF olmayan hastalarda da değişmektedir. MiR-1202, bu hastalarda düzeyi en çok azalan miR'dir.²⁷⁷ Mevcut bilgilere göre bu miRNA'nın hedef aldığı gen ya da fonksiyonu henüz bildirilmemiştir. Ventriküler aritmi prevelansı ise, yapısal kardiyak hastalık ya da kardiyak cerrahi geçirenler başta olmak üzere, çocuk ve adolesanlarda gittikçe artmaktadır. Bu hastalar kardiyak senkop ve ani kardiyak ölüm açısından artmış risk altındadır.²⁷⁸ Kardiyak miRNA'lardan miR-1, miR-133 ve iyon kanal ekspresyonlarının değişimleri, hastaların ventriküler taşikardiye yatkın hale gelmesine yol açar. İleri evre non-iskemik kardiyomiyopati ve ventriküler taşikardisi olan hastalarda, hem miR-1 ve miR-133a hem de onların hedef mRNA'ları azalmaktadır.²⁷⁹ Buna bağlı olarak; miR-1 aşırı salınımının, direkt olarak KCNJ2 ve GJA1 represyonu ile aritmogenezisi indüklediği sonucuna varılmıştır. GJA1, konneksin 43'ü kodlamaktadır. Konneksin 43, ventriküllerde hücre içi iletimden sorumlu ana kardiyak gap-junction kanalıdır.²⁸⁰ KCNJ2 ise potasyumu içeri alan kanalı kodlamaktadır.

MiR-1, kardiyak eksitasyon-kontraksiyon düzeneğini; L-tipi kalsiyum kanalları ile ryanodin reseptörlerinin fosforilasyonunu selektif olarak arttırmaktadır. Özellikle bu kanallara karşı protein fosfataz PP2a'nın lokalizasyonunu bozarak etki eden miR-1; PP2A düzenleyici alt birimi olan B56 üzerinden, ryanodin reseptörlerinin Ca-MKII-

bağımlı hiperfosforilasyonuna sebep olur, ryanodin reseptör aktivitesini artırır ve sonuç olarak aritmojenik sarkoplazmik retikulum kalsiyum salınımını artırır.²⁸⁰ Kaspesifik miR-1'in de, insan ve rat kalbinde iskemi sonrasında kardiyak aritmi-ilişkili miRNA'lardan olduğu belirlenmiştir. Yukarıda belirtildiği üzere miR-1, hedef genler olarak GJA1 ve KCNJ2'yi etkiler, böylece yavaş iletim ve sitoplazmik membran depolarizasyonuna sebep olur.²⁴⁴ Normal ya da enfarktlı kalplerde, miR-1'in aşırı salınımı aritmojenik etki yaparken; enfarkte kalplerde anti-sense inhibitör ile miR-1'in elimine edilmesi aritmojenik etkilere sebep olmaktadır.^{281,282}

Romatizmal hastalıklar ve miRNA

Yakın zamanda miRNA'ların immün hücre gelişiminde ve immün yanıtların düzenlenmesinde de önemli roller oynadığı bildirilmiştir.^{283,215} MiRNA'ların değişen ekspresyon profilleri; ilk olarak kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Ancak daha sonraki süreçlerde kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları, şizofreni, Alzheimer hastalığı, nöropsikiyatrik hastalıklar, viral enfeksiyonlar, primer biliyer siroz, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar gibi birçok patolojik durumda miRNA'ların rolü olabileceği ifade edilmiştir.^{216,221}

Yakın zamanda bazı çalışmalarda; birçok farklı romatoid hastalık gelişiminde miRNA'ların rolü üzerinde durulmuştur^{284,229} ve günümüzde bu argümanla alakalı birçok yeni ve heyecan verici bilgiler elde edilmiştir. Günümüzde miRNA'ların değişmiş salınımlarının persistan inflamasyona ya da bozulmuş self-antijen toleransına yol açıyor olması şaşırtıcı değildir, yani miRNA'lar hem otoimmün hem de inflamatuvar kronik hastalıklarla sıkça ilişkilendirilmektedir.^{215,285}

Sistemik Lupus Eritematozus, Romatoid Artrit, Sjögren sendromu, sistemik skleroz, psöriazis ve psöriatik artrit dahil olmak üzere birçok kronik inflamatuvar ya da otoimmün hastalıkta değişmiş miRNA düzenlenmesi bildirilmiştir. Osteoartrit, yaşla en sık ilişkili hastalıktır ve bu hastalarda da miRNA ekspresyonlarının değiştiği gösterilmiştir. Romatoid hastalıklardaki kritik rolleri gözönüne alındığında, miRNA'ların hastalık aktivite ve şiddetini öngörmede kullanılabileceği, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabileceği ve biyomarker olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak bu konu halen araştırılmayı bekleyen bir boşluktur ve henüz çok erken evrede olduğumuz bu tartışmalar ile ilgili, miRNA'ların

spesifik rollerini ortaya koymada ve romatoid hastalıklarla ilişkilerini göstermede daha büyük ve spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır.²⁸⁶

Akut Miyokard İnfarktüsü ve miRNA

Akut miyokard enfarktüsünün (MI) birçok genin disregülasyonu ile giden kompleks bir süreç olduğu iyi bilinmektedir.²⁸⁷ Bu yüzden, miRNAların da miyokard infarktüsü ile ilişkili olabileceği hipotezi geliştirilmiştir.

Kardiyomiyosit ölümü/apoptozi siskemik kalplerdeki kilit sellüler olaydır. Ren ve ark. miRNA ekspresyonunun iskemik kalplerdeki etkisine karar vermek üzere in vivo ve exvivo kardiyak iskemisi ve reperfüzyonu (I/R) bulunan bir fare modeli oluşturmuşlar ve miR-320 ekspresyonunun iskemik kalplerde tutarlı olarak disregüle olduğunu bulmuşlardır.²⁸⁸ Bilinen bir kalp koruyucu protein olarak heat-shock protein 20'yi (HSP20) miR-320'nin hedefi olarak tanımlamışlardır. Endojen miR-320'nin etkisiz hale getirilmesi, HSP20'yi hedef alarak iskemi/reperfüzyon ile indüklenen kardiyomiyosit ölümüne ve apoptoza karşı koruma sağlamaktadır. MiRNA ekspresyonu akut MI'den 6 saat sonra fare kalbinde miR-21 ekspresyonunun enfarkte olan alanlarda önemli ölçüde downregüle olduğunu ancak sınır alanlarda upregüle olduğunu ortaya çıkarmıştır.²⁸⁹ MiR-21'in adenoviral transferin vivo olarak hedef geni olan programlı hücre ölümü 4 (PDCD4) ve aktivatör protein 1 (AP1) yolağı aracılığıyla sınırda ve enfarkt alanlarında hücre apoptozunu azaltmıştır.

İnvitro deneyler miR-1 ve miR-133'ün H9c2 fare ventrikül hücrelerinde oksidatif stresten kaynaklanan apoptosiz üzerinde zıt etkiler ürettiğini göstermiştir. MiR-1 pro-apoptotikken miR-133 anti-apoptotiktir. HSP60'ın miR-1 tarafından ve HSP70'in miR-133 tarafından post-transkripsiyonel olarak baskılanması zıt etkilerine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. MiR-1 her zaman, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1'in translasyonunu inhibe etme suretiyle hücre ölümü yolağıyla ilişkilidir.^{290,291}

Erken iskemik veya hipoksik ön koşullama kısa hipoksi/iskemi döngülerine karşı ani bir hücreyel yanıttır ve de-novo protein senteziyle ilişkili olmasına rağmen mRNA senteziyle ilişkili değildir.²⁹² Rane-S ve ark. tarafından yürütülen güncel bir çalışma miR-199a'nın eşsiz bir fonksiyonu olarak, oksijen gerilimdeki azalmaya yanıt olarak muhtemelen selektif miRNA stabilitesi ve stem-loop süreciyle gen ekspresyonundaki ani bir düşüşü tetikleyen moleküler bir anahtar gibi işlev

gördüğünü ortaya çıkarmıştır.²⁹³ MiR-199a'nın doğrudan hipoksi ile indüklenen faktör (HIF)-1 α ve Sirtuin1'in translasyonunu hedef aldığı ve inhibe ettiği gösterilmiştir. Hif-1 α hipoksi ile indüklenen gen transkripsiyonunu düzenler ve oksijen seviyelerindeki düşüşün ardından ileri düzeyde eksprese edilmesini sağlayan oksijene duyarlı bir mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. Bu sonuçlar miR-199'un hipoksi ile indüklenen yolaktaki ana düzenleyici olduğuna ve hipoksik hasara karşı ön koşullanan hücreler için kullanılabileceğine işaret etmektedir. Bu bulgu hipoksi ön koşullaması ve dayanıklılığı düzenleyen iki anahtar molekül arasında fonksiyonel bir bağlantı bulunduğunu gösterdiğinden, miR199a'nın düzenleyici fonksiyonunu tam olarak incelemek ilgi çekici olabilir.

Güncel çalışmalar bazı miRNAların dolaşımdaki kanda bulunduğunu ve bazı ekzomalarda ve mikropartiküllerde bulunduğunu göstermektedir.^{295,296} Dolaşımdaki miRNAların düzeyleri bazı hastalıklarla birlikte rapor edilmiştir.^{296,297} Kardiyovasküler hastalıklarda, dolaşımdaki miRNAlar miyokard hasarı olan fare modellerinde gösterilmiştir.²⁹⁸ Son zamanlarda, miyokard enfarktüsü olan hastaların dolaşımında miRNA bulunduğunu bildirilmiştir.³⁰¹ Bu sonuçlardan yola çıkarak sistemik dolaşımdaki miRNAların doku hasarını yansıtabileceği hipotezi kurulmuştur ve bu nedenle miyokard enfarktüsünde bir biyomarker olarak kullanılabilir.^{299,300}

Koroner Arter Hastalığı ve miRNA

Koroner arter hastalığı (KAH) ile miRNA'ların ilişkisi Fichtlscherer ve ark. tarafından incelenmiş olup endotel hücrelerinden zengin miRNA'lar (miR-126, miR-17 ve miR-92a), inflamasyonla ilişkili miR-155 ve düz kas ilişkili miR-145'in sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında KAH'da önemli derecede plazma seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir.³⁰² Bu sonuçlar KAH'ı öngörmede miRNA'ların potansiyel biyomarker olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, KAH olan hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde 157 farklı miRNA'ları inceleyen ticari platformlar kullanılmış olup miR-135a plazma konsantrasyonunun 5 kat arttığı; miR-147 konsantrasyonunun ise 4 kat azaldığı gösterilmiştir. Bu sonuçlarla miR-135a/miR-147 oranının KAH için potansiyel biyomarker olabileceği düşünülmüştür.³⁰² Diğer bir önemli çalışmada ise unstabil angina pectorisli hastalar yüksek plazma miR-134, miR-198 ve miR-370 düzeyleri ile stabil angina pectorisli hastalardan ayırt edilebilmiş

ve bu veriler ışığında miRNA'lar akut koroner sendrom riski taşıyan yüksek riskli hastaların saptanmasına olanak vermiştir.¹⁵⁸

Esansiyel Hipertansiyon ve miRNA

Mikroarray tabanlı miRNA ekspresyon profili kullanarak Li ve ark.'nın 13 esansiyel hipertansiyon hastası ile 5 sağlıklı gönüllü arasında yaptığı çalışmada 46 disregüle miRNA saptanmış olup bunların 35'i downregüle, 11'i ise upregüle olarak eksprese olmuştur.¹⁵⁹



GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Kardiyoloji Polikliniği'nde romatizmal kalp hastalığı tanısı ile izlenen, 6-15 yaş arası 36 hasta dahil edildi. Hastalar, modifiye Jones kriterlerine (Tablo 2) göre tanı almış ve kardit bulguları ekokardiyografi ile doğrulanan çocuklardan oluşmaktadır. Kontrol grubu ise, yine aynı poliklinik tarafından masum üfürüm tanısı ile izlenen ve ekokardiyografisi normal olan 8-15 yaş arası 35 sağlıklı çocuktan oluşmaktadır.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri;

- 1-Romatizmal kalp hastalığı tanısı almış olmak,
- 2-18 yaş altında olmak,
- 3-Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Çocuk Kardiyoloji polikliniğinde izleniyor olma.

Araştırmadan dışlanma kriterleri;

- 1- Onam formu imzalamamak,
- 2- 18 yaşından büyük olmak,
- 3- Doğumsal kalp hastalığı olmak,
- 4- Sistemik başka hastalığı bulunmak (FMF, JRA vs...),
- 5- Ailesinde romatizmal eklem veya kalp hastalığı olmasıdır.

Hasta ve kontrol grubunun, demografik özellikleri, aile öyküleri, özgeçmişleri ve ekokardiyografi sonuçları kaydedildi.

Mersin Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra (2014/244) çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubundaki bireylerin kendilerine ve/veya ailelerine hastalıkla ilgili bilgi verilerek ailelerden yapılacak işlemler için onay alındı.

Kontrol ve hasta grubundaki hastalardan miRNA analizi için EDTA'lı tüplere tam kan örnekleri alındı.

İşlemlerde ortak kullanılan sarf malzemeler:

- Pipet ucu 1-10 µL (Katalog No: DFL10, Gilson)
- Pipet ucu 2-30 µL (Katalog No: DF30, Gilson)
- Pipet ucu 10-100 µL (Katalog No: DF100, Gilson)
- Pipet ucu 20-200 µL (Katalog No: DF200, Gilson)
- Pipet ucu 100-1000 µL (Katalog No: DF1000, Gilson)
- 0.2 mL Thermo-Strip (8'li strip tüp, Thermo Scientific, UK)
- 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpü (DNaz, RNaz sız)
- 96 Well PCR Plate (Katalog No: 1402-9400, USA Scientific)
- PCR Plate Film (Katalog No: 2921-7800, USA Scientific)

İşlemlerde Ortak Kullanılan Cihazlar:

- 8 kanallı pipet 1-20 µL (Gilson)
- 8 kanallı pipet 20-200 µL (Gilson)
- Pipet 2-20 µL (Gilson)
- Pipet 10-100 µL (Gilson)
- Pipet 20-200 µL (Gilson)
- Pipet 100-1000 µL (Gilson)
- Santrifüj (Nüve NF 800, Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat Ve Ticaret AŞ, Ankara, Türkiye)
- Santrifüj (Sigma 1-15 Microfuge, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Postfach 1713, Germany)
- Santrifüj (Sigma 1-14 Microfuge, SN: 141318, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Postfach 1713, Germany)
- Derin dondurucu (-80° C , Lab -85° C, Elcold)
- Derin dondurucu (-20° C, Uğur Soğutma Makinaları San. Ve Tic. A.Ş.)
- Buzdolabı (+ 4° C, Electrolux)
- Plate Karıştırıcısı (PKT Smart Mixer, Multi Shaker, JSH-03, SN: JMC-JSH03-1005, PhileKorea, Korea)
- Plate santrifüjü (PKT Mini Multi-well plate centrifuge, JCW48, SN: PKT-JCW48-1057, PhileKorea, Korea)
- Termal cycler (Gene-Pro Thermal Cycler, B384G, SN: BYQ606002E-060, Korea)

A. MiRNA Analizi:

1. Plazma eldesi:

Çalışma gruplarından % 7,5 EDTA'lı tüplere alınan 5 ml'lik kan örnekleri yavaşça alt-üst edilerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılarak plazmaları ayrıldı.

1. Tüpler 2000 g'de 15 dakika santrifüj edildi.

2. Santrifüj işlemi sonunda tüpler dikkatlice santrifüjden çıkartıldı.

3. Plazmanın en üst kısmından 1000 µl olacak şekilde plazma toplandı.

4. Toplanan 1000 µl lik plazma 2000 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve plazmanın en üst kısmından alttaki süpernatana dokunmadan pipet ile (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları kullanılarak) 200 µl temiz bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Mikrosantrifüj tüpleri hastaya ait barkod etiketi ile etiketlendi.

5. Bu şekilde ayrılan plazma örnekleri -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

miRNA izolasyonu:

miRNA'lar plazmadan miRNA izolasyon kiti (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) ile izole edildi.

Protokol:

1- Plazma örnekleri en az 5 kez yavaşça alt-üst edilerek karıştırıldı ve 150 µl'lik kısım temiz bir mikrosantrifüj tüpüne (DNase, RNase Free) alındı.

2- Örnekler üzerine 312 µl Binding Buffer ve 200 µl Binding Enhancer eklendi ve karıştırıldı.

3- Karıştırılan örnekler filtreli tüp + toplama kabına aktarıldı. 13000 g'de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama kapları atıldı.

4- Temiz toplama kaplarına alınan filtreli tüplere 500 µl Wash Buffer eklendi. 13000 g'de 30 sn. santrifüj edildi ve toplama kapları atıldı.

5- Temiz toplama kaplarına alınan filtreli tüplere 300 µl Wash Buffer eklendi. 13000 g'de önce 30 saniye sonra 1 dakika santrifüj edildi ve toplama kapları atıldı.

6- Filtreli tüpler temiz bir mikrosantrifüj tüpüne (DNase, RNase Free) alındı ve 50 µl Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilen örnekler 13000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.

7- Elde edilen total RNA -80°C'de derin dondurucuda saklandı

2. cDNA Hazırlanması:

Aşağıdaki karışım hazırlandı. Bu karışım 71 örneğin cDNA reaksiyonu için yeterlidir (ekstra hacimler hesaplamaya dahil edilmiştir)

5x Reaction Buffer	230 µl
Enzyme mix	115 µl
TOPLAM	345 µl

Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 41 er µl olarak transfer edilir. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 3 er µl alınarak temiz bir 96 lık Plate'in tüm kuyularına pipetlenir.

RNA örnekleri de her kuyuya, yukarıda transferi yapılan karışımların üzerine 7 şer µl olmak üzere pipetlenir. Plate film ile kaplanır, plate karıştırıcıda elle bastırılarak 10 saniye karıştırılır. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir ve Plate Thermal Cycler'a konularak aşağıdaki program çalıştırılır.

42° C	60 dakika
95° C	5 dakika
4° C	∞

Thermal programın sonunda plate'in oda sıcaklığına gelmesi beklenir (deney bitiminde yüzeyi sıcak olabilir). Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir. Preamplifikasyon hemen gerçekleştirilmeyecekse -20° C de saklanır.

B. PreAmplifikasyon Hazırlanması:

Preamplifikasyon primer karışımı (Pool Primer Mix) her plate için bir kez aşağıdaki şekilde hazırlanır.

Primer plate'i plate santrifüjünde 2 dakika santrifüj edilir. Üzerindeki film açılır ve her kuyuya 9 µl 1x TE Buffer ya da 1x DNA Suspension Buffer ya da DNase, RNase Free su eklenir. Plate karıştırıcıda 3 dakika 2000 rpm de karıştırılır. Plate santrifüjde 1 dakika santrifüj edilir. 4° C de 30 dakika bekletilir ve yukarıdaki karıştırma ve santrifüj işlemleri tekrarlanır.

Bir rezervuarın içerisine bu primer kuyularından 4.5 er µl primer konularak hepsi birbirine karıştırılır. Bu karışım halindeki primerlerin üzerine 54 µl 1x TE Buffer ya da 1x DNA Suspension Buffer ya da DNase, RNase Free su eklenir. İyice karıştırılır ve 150 şer µl olacak şekilde 3 ayrı SafeLock Eppendorf tüpüne konularak uygun şekilde etiketlenir. Bu tüplerin her biri 1 adet 96 lık örneğin preamplifikasyonu için yeterlidir.

Plate içerisinde kalan primerler plate film ile kaplanarak aşağıdaki Dynamic Array hazırlanması kısmına kadar 4° C de ya da -20° C de saklanır. cDNA plate'i bir plate taşıyıcı üzerine konulur (plate'in kaymaması ve kırılmaması için gereklidir). Film açılır. Bir rezervuara 5 mL kadar DNase, RNase-free su konulur. Plate'in her kuyusuna 40 µl bu sudan eklenir. Yeni bir film ile plate kaplanır, plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırılır. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir.

Preamplifikasyon deneyi için aşağıdaki karışım hazırlanır. Bu karışım 96 örneğin PreAmplifikasyon reaksiyonu için yeterlidir (ekstra hacimler hesaplamaya dahil edilmiştir)

TaqMan PreAmp Master Mix (Life Technologies P/N 4361128)	300 µl
Pool Primer Mix	150 µl
TOPLAM	450 µl

Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 54 er µl olarak transfer edilir. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 3.75 er µl alınarak temiz bir 384 lük Plate'in tüm ¼ üne pipetlenir.

Sulandırılmış olan cDNA örneklerinden her kuyuya 1.25 er µl olmak üzere pipetlenir. Plate, film ile kaplanır, plate karıştırıcıda 3000 rpm de 3 dakika karıştırılır. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir ve Plate 384 lük Thermal Cycler da eğer aşağıdaki PreAmp Protokolü çalıştırılır.

PreAmp Protokolü

95°C 10 dakika başlangıç denatürasyon

C 15 saniye 15 döngü

C 4 dakika 15 döngü

4°C ∞

Thermal programın sonunda plate'in oda sıcaklığına gelmesi beklenir (deney bitiminde yüzeyi sıcak olabilir). Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir, film açılır. Her kuyudan 2 şer µl alınarak yeni bir 384 lük plate in kuyularına transfer edilir. Her kuyuya 8 er µl DNase, RNase free su eklenir. Yeni bir film ile plate kaplanır, plate karıştırıcıda 3000 rpm de 3 dakika karıştırılır. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir.

C. Dynamic Array Hazırlanması:

Bu aşama da 6 ayrı adım vardır;

1. Dynamic Array'in PRIME edilmesi,
2. Assay Plate'inin hazırlanması,
3. Örneklerin hazırlanması,
4. Dynamic Array'e pipetlemelerin yapılması,
5. IFC Controller da Dynamic Array'in Load edilmesi,
6. Dynamic Array'in BioMark da çalışılması.

C.1. Dynamic Array'ın PRIME edilmesi:

Bir adet Dynamic Array'e kontrol sıvılar enjekte edilir ve Dynamic Array IFC Controller da PRIME edilir. Bu işlem tam 20 dakika sürecektir. PRIME işlemi devam ederken aşağıdaki aşamaya geçilir.

C.2. Assay Plate'inin Hazırlanması:

Pool Primer Mix hazırlandıktan sonra plate de kalan primerler oda sıcaklığına getirilir. Aşağıdaki karışım hazırlanır. Bu karışım bir adet Assay Plate için yeterlidir (ekstra hacimler hesaplamaya dahil edilmiştir).

2X Assay Loading Reagent	1260 µl
DNase, RNase Free su	630 µl
TOPLAM	1890 µl

Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 230 ar µl olarak transfer edilir. Assay plate in her bir kuyusuna bu karışımdan 13.5 er µl pipetlenir.

Assay Plate film ile kaplanır. Plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırılır. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilir.

Hazırlanan bu karışım Dynamic Array lere pipetlemeye hazırdır ve 3 adet Dynamic Array için yeterlidir. Kullanılmayan primer plate inin hemen -20° C de saklanması gerekir.

C.3. Örneklerin Hazırlanması:

Aşağıdaki karışım hazırlanır. Bu karışım bir set (96 örnek) için yeterlidir (ekstra hacimler hesaplamaya dahil edilmiştir).

2x TaqMan Gene Expression Master Mix	360 µl
20x DNA Binding Dye Sample Loading Reagent	36 µl
20x EvaGreen	36 µl
RNase-free water	108 µl
TOPLAM	540 µl

Bu karışım bir 96 lık plate in ilk kolonunun 8 kuyusuna 65 er µl olarak transfer edilir. Bu karışımdan 4.5 er µl temiz bir 96 lık plağın tüm kuyularına pipetlenir. Sulandırılmış olan preamplifiye ürünlerin üzerindeki film açılır. Herbir preamplifiye örnek den 1.5 er µl bu plate' e transfer edilir. Plate yeni bir film ile kaplanır. Plate, plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırılır. Plate santrifüj de 30 saniye santrifüj edilir.

C.4. Dynamic Array'e Pipetlemelerin Yapılması:

Assay pipetlemeleri için Viaflo Voyager (12.5 µl) de şu program yapılır. Aspirate 4.75 µl, Dispense 4.50 µl. Tüm kuyularda ki Assayler bu şekilde Dynamic Array e transfer edilir.

Örnek pipetlemeleri için Viaflo Voyager (12.5 µl) de Assay için yapılan program kullanılır.

Tüm kuyularda ki Örnekler bu şekilde Dynamic Array e transfer edilir.

C.5. IFC Controller da Dynamic Array'in Load edilmesi:

Dynamic Array IFC Controller'a yerleştirilir ve LOAD Seçeneği seçilerek LOAD işlemi başlatılır. Bu işlemi başlattıktan sonra BioMark Data Collection yazılımı başlatılır ve "Double Click to Turn Lamp On" kısmına çift tıklanarak BioMark'ın lambası çalıştırılır. Lambanın ısınması 20 dakika sürecektir.

C.6. Dynamic Array'ın BioMark da çalışılması:

Dynamic Array IFC Controller dan alınır. Dynamic Array altındaki mavi filmin uzaklaştırıldığından emin olunur. Chip yüzeyinin temiz olup olmadığı kontrol edilir. Dynamic Array BioMark'a barcode kısmı dışarı bakacak şekilde yerleştirilir.

BioMark Data Collection yazılımı yardımı ile Dynamic Array çalıştırılır. Verilerin kaydedileceği yer ve Dosya adı seçildikten sonra diğer sayfa da. "Gene Expression" seçilir. Passive Reference Dye olarak "ROX" seçilir. "Probe Type" kısmında "EvaGreen" seçilir.

Sonraki ekranda Protokoller arasından "Exiqon miRNA Protokol" seçilir ve Program başlatılır.

Exonucleaz protokolü

1. Aşağıdaki karışım (71 örnek için) hazırlanır (rakamlara ölü hacimler dahil edilmiştir).

Exonucleaz I Reaction Buffer	24 µl
Exonucleaz I	48 µl
Nucleaz Free Water	168 µl
Toplam Hacim:	240 µl

2. Bir adet piko plate alınız. Yukarıdaki karışımı piko platein 1. Kolonundaki 16 kuyucuğa herbirine 15.0 µl olmak üzere pipetlenir.
3. 16 kanallı pipeti (12.5 µl maksimum hacimli pipet) 2.05 µl aspire edecek ve her defasında 2.0 µl olmak üzere programlanır.
4. 5 µl preamp cDNA örneklerinizin üzerine (preamplifikasyon ürünlerini dilüye etmeden önce) hazırladığınız karışımdan pipetlenir.
5. Plate'inizi yapışkan film ile iyice kaplayınız. Plate Shaker da 3000 rpm de 3 dakika karıştırınız, kısaca plate santrifüjünde santrifüj edilir.
6. Aşağıdaki protokol 384 kuyuluk thermal cyclers da çalıştırılır.

PreAmp Thermal Program

37 ° C	30 dakika
80 ° C	15 dakika
∞	4°C

7. Exonuükleaz sonunda PreAmp cDNA ları 18 μ l 0.1xTE ile sulandırılır. Eğer PreAmp cDNA ları aynı gün kullanılmayacaksa -20°C de, aksi takdirde +4°C de saklanır.



İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde normal dağılım kontrolü ShapiroWilk testi ile yapıldı. Test sonucuna göre $p > 0,05$ olan değişkenlerin normal dağılım varsayımını sağladığı kabul edildi. Tanımlayıcı istatistiklerden ortalama \pm standart sapma, medyan, minimum-maksimum ve 25.-75.çeyreklikler kullanıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin iki bağımsız grup arasındaki ortalamalarının karşılaştırılması, parametrik testlerden Student t testi, üç bağımsız grup arasındaki ortalamalarının karşılaştırılması ise parametrik testlerden ANOVA ile test edildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin iki bağımsız grup arasındaki medyanlarının karşılaştırılması, parametrik olmayan testlerden Mann Whitney U testi, üç bağımsız grup arasındaki medyanlarının karşılaştırılması, parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis ile test edildi. Kapak tutulum sayısının homojenlik dağılım kontrolü için ki-kare testi kullanıldı. Aralarında ilişki bulunan değişkenler için oran karşılaştırmaları iki oran Z testi ile yapıldı. Tüm karşılaştırmalar için istatistik önem seviyesi (p) 0.05 düzeyinde tutuldu.

Hasta ve kontrol grupları için ayrı ayrı miRNA'lara ait delta CT ortalamaları ve $2^{-\Delta\Delta C_T}$ değerleri verilmiştir. $2^{-\Delta\Delta C_T}$ formülüne, Delta Delta Ct sonucu yerleştirilerek fold change değerleri hesaplandı. Biomark sistemden elde edilen threshold cycle (Ct) verilerinin istatistiksel analizinde, [http://www.qiagen.com / us / shop / genes - and - pathways / data- analysis -center- overview – page / web sitesinden](http://www.qiagen.com/us/shop/genes-and-pathways/data-analysis-center/overview-page/web-sitesinden) faydalanıldı. Analizde; plazma örnekleri için belirlenmiş bir house keeping (referans gen) olmadığından global mean normalization yöntemine dayanarak analizler yapıldı. Bu yöntemde, her örnek için çalışılan tüm miRNA'lardan alınan Ct değerlerinin ortalaması alındı. Bu ortalama değer o örneğin house keepingi olarak kabul edildi. Çalışılan her miRNA için, her bir kontrol örneğinin Ct değeri, house keeping genden çıkarılarak Delta Ct (ΔC_T) değeri hesaplandı. Aynı hesaplamalar hasta grubu örnekleri içinde yapılmıştır. Hasta ve kontrol grupları için hesaplanan Delta Ct değerlerinin ortalaması alındı ve ortalama hasta Delta Ct değerinden, ortalama kontrol Delta Ct değeri çıkarılarak Delta Delta Ct ($\Delta\Delta C_T$) değeri bulundu. $2^{-\Delta\Delta C_T}$ formülüne, Delta Delta Ct sonucu yerleştirilerek fold change değerleri hesaplandı. Fold change hesaplanmasında student t test yöntemi kullanıldı. İstatistiksel olarak, $p < 0.05$ olan miRNA'lar anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen gruplara ait demografik özellikler Tablo 6'da verildi.

Hasta ve kontrol grupları arasındaki yaş ortalaması farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Hasta grubun yaş ortalaması 12.1 ± 2.1 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 11.1 ± 2.3 idi (Tablo 6).

Hasta ve kontrol grupları arasındaki boy ortalamaları istatistiksel olarak benzerdi. Hasta grubun boy ortalaması 149 ± 14 iken, kontrol grubunun boy ortalaması 147 ± 9 olarak saptandı (Tablo 6).

Hasta ve kontrol grupları arasındaki vücut ağırlığı ortalamaları da benzerdi. Hasta grubun vücut ağırlığı ortalaması 45.1 ± 9.5 iken, kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalaması 40.5 ± 10.5 olarak belirlendi. (Tablo 6).

Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark saptanmadı. Hasta grubunun %54.3'ü kız iken, kontrol grubunun %45.7'si kız idi (Tablo 6).

Hastaların tanı konulma yaş ortalaması ise 9.8 ± 2.5 olarak saptandı (Tablo 6).

Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	HASTA		KONTROL		P
	Ort \pm SS	Min-Maks	Ort \pm SS	Min-Maks	
YAŞ	12.1 ± 2.1	6-15	11.1 ± 2.3	8-15	0.060
K/E	19/17		16/19		0.552
BOY (CM)	149 ± 14	115-170	147 ± 9	125-167	0.433
VA (KG)	45.1 ± 9.5	18-60	40.5 ± 10.5	23-60	0.058
TANI YAŞI	9.8 ± 2.5	5-14	----	---	

SS: Standart sapma, VA: Vücut ağırlığı, K/E: Kız/Erkek

Hastaların yaklaşık 1/3 ünde (11 hasta) kardite diğer majör bulgular eşlik ediyordu. Hastaların 4'ünde artrit, 4'ünde eritema marjinalum, 2'sinde sydenham koresi ve 1 hastada da subkutan nodül vardı (Tablo 7).

Tablo 7: Hastalarda kardite eşlik eden majör bulgular

EŞLİK EDEN MAJÖR BULGU	N	%
Artrit	4	36.4
Eritema nodosum	4	36.4
Sydenham koresi	2	18.2
Subkutan nodül	1	9.1

Hastaların %91.7'si sekonder profilaksi alıyor iken, %8.3'ünün profilaksi almadığı öğrenildi. Profilaksi alan grupta %86.1'i düzenli profilaksi alırken, %13.9'u düzenli profilaksi almıyordu. Hiçbir hastada ameliyat öyküsü yoktu.

Hastaların %55.6'sında AY+MY, %38.9'unda AY, %5.6'sında ise MY mevcuttu. Çalışmaya konjenital kalp hastalıklarındaki kapak tutulumunu dışlamak için, öncelikli olarak iki kapak tutulumu olan ve AY olan hastalar alındığı için normal dağılımın dışında bir dağılım vardı (Tablo 8).

Tablo 8: Hastaların kapak tutulumu

	N	%
AY+MY	20	55.6
AY	14	38.9
MY	2	5.6
Total	36	100

AY:Aort yetmezliği, MY:Mitral yetmezlik,N:Hasta sayısı

Hastaların LA alanı, LVEDD ve EDV değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Sol ventrikül sistolik fonksiyonlarını gösteren diğer parametrelerde gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo 9).

Tablo 9: Hasta ve kontrol grubunun EKO parametreleri

	HASTA		KONTROL		P
	Ort±SS	Min-Maks	Ort±SS	Min-Maks	
LA/AO	1.08±0.11	0,92-1,32	2.19±2.8	0,88-10,8	0.133
LA Alanı	12.9±6.5	6,7-29	8.9±4.0	1,0-16,4	0.044
IVSD	0.80±0.15	0,6-1,1	0.73±0.13	0,5-1,0	0.156
LVEDD	3.84±0.28	3,4-4,2	3.63±0.25	3,3-4,2	0.038
LVPWD	0.80±0.10	0,6-1,0	0.90±0.20	0,6-1,3	0.435
IVSS	1.12±0.13	0,9-1,4	1.02±0.18	0,7-1,3	0.940
LVEDS	2.41±0.22	2-2,9	2.29±0.19	2,0-2,6	0.980
LVPWS	1.13±0.17	0,9-1,6	1.12±0.19	0,9-1,6	0.867
EDV	63.9±11.1	47-79	55.9±9.8	43-78	0.045
ESV	20.3±4.3	13-31	18.1±3.5	13-24	0.135
EF	67.8±5.2	60-76	67.4±5.3	61-77	0.854
KF	37.3±4.1	32-44	36.7±4.4	32-45	0.706

LA: Sol atriyum, AO: Aorta, IVSD: Septum diyastol sonu çap, LVEDD: Sol ventrikül diyastol sonu çap, LVPWD: sol ventrikül arka duvar diyastol sonu çap, IVSS: Septum sistol sonu çap, LVEDS: Sol ventrikül sistol sonu çap, LVPWS: Sol ventrikül arka duvar sistolik çap, EDV: Diyastol sonu volüm, ESV: Sistol sonu volüm, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, KF: Kısalma fraksiyonu

Hasta grubunun %16.7'sinde anne-baba arasında akrabalık varken, kontrol grubunda ise %17.1'inde akrabalık saptandı. Anne-baba akrabalığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark saptanmadı ($p>0.05$). (Tablo 10).

Tablo 10: Hasta ve kontrol grubunun akrabalık durumu

	HASTA		KONTROL		P
	N	%	N	%	
ANNE-BABA AKRABALIĞI					
Evet	6	16.7	6	17.1	0,97
Hayır	30	83.3	29	82.9	

Hasta grubunda annelerin %22.2'si okumamış, %36.1'i ilkokul mezunu, %13.9'u ortaokul mezunu, %19.4'ü lise mezunu ve %8.3' ü üniversite mezunu idi. Kontrol grubunda ise annelerin %14.3'ü okumamış, %45.7'si ilkokul mezunu, %8.6'sı ortaokul mezunu, %20'si lise mezunu ve %11.4'ü üniversite mezunu idi. Annenin eğitim durumuna göre hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 11).

Tablo 11: Hasta ve kontrol grubunun anne eğitim durumu

	HASTA		KONTROL		P
	N	%	n	%	
ANNE EĞİTİM DURUMU					
Okumamış	8	22.2	5	14.3	0.80 1
İlkokul	13	36.1	16	45.7	
Ortaokul	5	13.9	3	8.6	
Lise	7	19.4	7	20.0	
Üniversite	3	8.3	4	11.4	

Hasta grubunda babaların %13.9'u okumamış, %44.4'ü ilkokul mezunu, %11.1'i ortaokul mezunu, %19.4'ü lise mezunu ve %11.1'i üniversite mezunu idi. Kontrol grubunda ise babaların %51.4'ü ilkokul mezunu, %14.3'ü ortaokul mezunu, %14.3'ü lise mezunu ve %20'si üniversite mezunu idi (Tablo 12). Babanın eğitim durumuna göre hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 12: Hasta ve kontrol grubunda babanın eğitim durumu

	HASTA		KONTROL		P
	N	%	n	%	
BABA EĞİTİM DURUMU					
Okumamış	5	13.9	0	0	0.08 1
İlkokul	16	44.40	18	51.40	
Ortaokul	4	11.10	5	14.30	
Lise	7	19.40	5	14.30	
Üniversite	4	11.10	7	20.00	

Hasta ve kontrol grubu gelir durumu açısından karşılaştırıldığında hasta grubunun gelir düzeyinin daha düşük olduğu belirlendi. Hasta grubunda geliri giderinden az olan ailelerin oranı %63.9 iken kontrol grubunda bu oran %25.7 olarak saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Hasta grubunda benzer şekilde geliri giderine eşit olan ailelerin oranı %36.1 iken kontrol grubunda bu oran %65.7 olarak belirlendi ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 13).

Tablo 13: Hasta ve kontrol grubunun aile gelir durumu

	HASTA		KONTROL		P
	N	%	n	%	
AİLE GELİR DURUMU					
Geliri giderinden az	23	63.90	9	25.70	0.001
Geliri giderine eşit	13	36.10	23	65.70	
Geliri giderinden fazla	0	0	3	8.60	

Hastaların %86.1'i Akdeniz bölgesinde, %11.1'i Güneydoğu Anadolu bölgesinde, %2.8'si ise İç Anadolu bölgesinde yaşamaktaydı. Kontrol grubunun ise %91.4'ü Akdeniz bölgesinde, %2.9'u Güneydoğu Anadolu bölgesinde, %2.9'u

Karadeniz bölgesinde, %2.9'u ise İç Anadolu bölgesinde yaşamaktaydı (Tablo 14). Hasta ve kontrol grubu arasında yaşanan bölgelere göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 14: Hasta ve kontrol grubunun yaşadığı bölgeler

BÖLGE	HASTA		KONTROL		P
	N	%	N	%	
Akdeniz	31	86.1	32	91.4	0.345
İç Anadolu	1	2.8	1	2.9	
Güneydoğu Anadolu	4	11.1	1	2.9	
Karadeniz	0	0	1	2.9	

MiRNA Sonuçları

Kontrol grubuna göre hasta grubunda **hsa-miR-16-5p**'ye ait ekspresyon düzeyinde 1.46 kat azalma olduğu belirlendi. Hasta grubuyla kontrol grubu arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 15).

Kontrol grubuna göre hasta grubunda **hsa-miR-223-3p**'ye ait ekspresyon düzeyinde 1.46 kat azalma saptandı. Hasta grubuyla kontrol grubu arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 15).

Kontrol grubuna göre hasta grubunda **hsa-miR-92a-3p**'ye ait ekspresyon düzeyinde 1.27 kat azalma olduğu görüldü. Hasta grubuyla kontrol grubu arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Tablo 15).

Hasta grubu ile kontrol grubunun karşılaştırıldığında **hsa-miR-221-3p**, **hsa-miR-24-3p**, **hsa-miR-320a**, **hsa-miR-21-5p**, **hsa-miR-155-5p**, **hsa-miR-132-3p**, **hsa-miR-146a-5p**, **hsa-miR-499a-5p**, **hsa-miR-1**, **hsa-miR-125b**, **hsa-miR-196a-5p**, **hsa-miR-130b-3p**, **hsa-miR-133b**, **hsa-miR150-5p**, **hsa-miR-204-5p**, **hsa-miR-203a** ve **hsa-miR-10a-5p** ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 15).



Tablo 15: Hasta ve kontrol grubunun miRNA ekspresyon profili

	Gen	Ortalama ΔC_T		$2^{-\Delta\Delta C_T}$		Fold Change	Fold Up- or Down-Regulation	P
		Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta /Kontrol	Hasta/Kontrol	
1	hsa-miR-221-3p	9,62	8,47	0.001269	0.002823	0.45	-2.23	0.537818
2	hsa-miR-1	11,79	11,18	0.000283	0.000431	0.66	-1.52	0.497536
3	hsa-miR-16-5p	-0.42	-0.97	1341034,00	1957565,00	0.69	-1.46	0.006370
4	hsa-miR-125b-5p	8,35	7,76	0.003058	0.004605	0.66	-1.51	0.374097
5	hsa-miR-10a-5p	12,02	11,42	0.000240	0.000365	0.66	-1.52	0.456973
6	hsa-miR-196a-5p	12,05	11,42	0.000236	0.000364	0.65	-1.55	0.457143
7	hsa-miR-24-3p	6,34	6,45	0.012324	0.011457	1,08	1,08	0.318013
8	hsa-miR-130b-3p	10,96	10,53	0.000502	0.000675	0.74	-1.34	0.458142
9	hsa-miR-320a	5,24	4,73	0.026545	0.037559	0.71	-1.41	0.445972
10	hsa-miR-133b	11,55	10,87	0.000333	0.000533	0.63	-1.60	0.516266
11	hsa-miR-223-3p	0,42	0,97	0.745693	0.510839	1,46	-1,46	0.002601
12	hsa-miR-150-5p	5,44	5,39	0.023010	0.023796	0.97	-1.03	0.252619
13	hsa-miR-21-5p	4,86	4,61	0.034503	0.041003	0.84	-1.19	0.735286
14	hsa-miR-204-5p	11,94	11,18	0.000254	0.000432	0.59	-1.71	0.462690
15	hsa-miR-155-5p	11,29	10,76	0.000401	0.000575	0.70	-1.44	0.458877
16	hsa-miR-203a	11,95	11,37	0.000253	0.000379	0.67	-1.49	0.455700
17	hsa-miR-132-3p	9,96	9,30	0.001005	0.001581	0.64	-1.57	0.499347
18	hsa-miR-92a-3p	2,83	2,48	0.140899	0.178781	0.79	-1.27	0.011456
19	hsa-miR-146a-5p	9,38	8,30	0.001502	0.003166	0.47	-2.11	0.539180
20	hsa-miR-499a-5p	11,95	11,24	0.000252	0.000414	0.61	-1.64	0.464275

TARTIŞMA

Birçok farklı canlı türünde miRNA'lar tanımlanmıştır ve bunların yaklaşık 1400'ü insanlarda bulunmaktadır.³⁰⁵ İnsanlarda protein kodlayan genlerin %60'dan fazlasının miRNA'larla düzenlendiği tahmin edilmektedir, dolayısıyla bu da hastalıkların oluşumunda miRNA'ların rol alma ihtimalini arttırmaktadır.³⁰⁶ MiRNA'ların vücut sıvılarında bulunduğu keşfedilmesi, biyomarker olarak kullanılabilceği fikrini doğurmuştur.^{303,304,307} Bu konuda yoğun çalışmalar yapılmaktadır ve birçok hastalık ve tıbbi durum için biyomarker adayları belirlenmektedir. Bu çalışmada romatizmal karditli çocuklarla sağlam çocukların plazma miRNA seviyeleri karşılaştırıldı. Literatürde koroner arter hastalığı, kardiyomiyopati, kalp yetmezliği ile ilgili yapılan çalışmalar olmasına karşın bu çalışma, romatizmal karditli hastalarda miRNA profili ile ilgili yapılan ilk çalışmadır.

Son yıllarda bazı çalışmalarda; birçok farklı romatoid hastalık gelişiminde miRNA'ların rolü üzerinde durulmuştur^{25,33} ve günümüzde bu argümanla alakalı birçok yeni ve heyecan verici bilgiler elde edilmiştir. Günümüzde miRNA'ların değişmiş salınımlarının persistan inflamasyona ya da bozulmuş self-antijen toleransına yol açtığı bilinmektedir. MiRNA'lar hem otoimmün hem de inflamatuvar kronik hastalıklarla sıkça ilişkilendirilmektedir.^{310,311}

Değişmiş miRNA düzenlenmesi; SLE, RA, Sjögren sendromu, sistemik skleroz, psöriazis ve psöriatik artrit dahil olmak üzere birçok kronik inflamatuvar ya da otoimmün hastalık ile ilişkili olabilir. SLE hastalarında miR-21, miR-198, miR-663, miR-148a, miR-126, miR-198 ekspresyonun arttığı; miR130-b, miR-10a, miR-155, miR-184, miR-31, miR-95, miR-99, miR-134 azaldığı bulunmuştur.³¹² Sjögren sendromlu hastalarda miR-146a, sistemik sklerozda miR-21, osteoartritte miR -155 ekspresyonu artmıştır. Romatoid artrit hastalarında yapılan bir çalışmada miR-150, miR-155, miR-146a, miR-203, miR-223, miR-132 ekspresyonları artarken; miR-124a ve miR-34a azalmıştır. Psöriazis de miR-146a, miR-21 ve miR-221 ekspresyonu artarken; miR-125 b azalmıştır. Psöriatik artritli hastalarda miR-21 ve miR-125a ekspresyonu artmıştır.³¹² Çalışmamızda kontrol grubuna göre hasta grubunda **miR-203a** ve **miR-10a-5p**'ye ait ekspresyon düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hücrel-humoral bağışıklıkla ve başta romatoid artrit olmak üzere bazı romatizmal hastalıklarla miR-155'in ilişkisini ortaya koyan birçok çalışma mevcuttur.^{313,314} MiR-155 yoksun farelerde; Th1/Th2 oranında anormallik, T regülatör hücre sayısında azalma, Th2 sitokin üretiminde artış, germinal merkez yanıtlarında azalma; plazma hücreleri ve bellek hücrelerinin IgG sınıf geçişinde azalma ile T ve B bağışıklığında defekt saptanmıştır.³¹³ Hematopoezde, immün sistemde, neoplazide de miR-155'in rolü olduğu gösterilmiştir.^{315,316} Kardiyovasküler alanda yapılan çalışmalarda miR-155'in Anjiotensin II reseptörleriyle ilişkisi saptanmış hatta eksikliğin kardiyovasküler hastalıklara ve hipertansiyona yol açabileceği öne sürülmüştür.^{317,318} Fichtlscherer ve arkadaşları³¹⁹ koroner arter hastalığı olan bireylerde plazma miR-155 seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir. MI nedeniyle kaybedilmiş 50 hastada da ventrikül rüptürü olan grupta miR-155 seviyesinde azalma saptanmıştır.³²⁰ Ayrıca miR-155'in dilate kardiyomyopati hastalarda azaldığı da gösterilmiştir.³²¹ ARA hastalarında otoimmünite yani hücrel ve humoral bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla klinik bulguların ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda romatizmal karditli hastalarda **miR-155-5p** düzeylerinde kontrol grubuna göre fark saptanmadı.

Kalbin miyokard hasarında dolaşımdaki miRNA'ların rol oynadığını gösteren ilk klinik çalışma De Rosa ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada troponin pozitif akut koroner sendromlarda aorta ve koroner venöz sinüsten alınan plazma örneklerinde iskelet kası (miR-133a, miR-499 ve miR-155), vasküler (miR-126, miR-92a), lökosit (miR-155) ve trombosit (miR-223) kökenli miRNA'lar izole edilmiş olup troponin pozitif akut koroner sendromlarda miR-133a, miR-499 ve miR208a düzeyleri daha yüksek saptanmıştır.³²² MiR-1 ve miR-499; insan embriyonik kök hücrelerinin kardiyak farklılaşmasında önemli roller üstlenirler. MiR-499, insan embriyonik kök hücrelerinin ventriküler özelleşmesini artırırken, miR-1 elektrofizyolojik olgunlaşmayı arttırmaktadır.³²³ MiR-499 ayrıca insan kardiyak kök hücrelerinin mekanik-entegrasyonu bulunan kardiyomiyositlere dönüşümünü de uyarır, bu uyarı, insanlardaki kalp yetmezliğinin tedavisinde çok büyük bir umut ışığı anlamına gelebilir.³²⁴ MiR-1'in kardiyogenez açısından önemi, kardiyak transkripsiyon faktörü Hand2'yi düzenleyerek farelerde kalp farklılaşması ve kalp gelişimini kontrol ettiği gösterilerek kanıtlanmıştır.³²⁵⁻³²⁸

Invitro deneyler miR-1 ve miR-133'ün H9c2 fare ventrikül hücrelerinde oksidatif strese kaynaklanan apoptosiz üzerinde zıt etkiler ürettiğini göstermiştir,

miR-1 pro-apoptotikken miR-133 anti-apoptotiktir.^{329,330} Ayrıca, miR-133'ün kolesterol homeostazisini kontrol ettiği de belirlenmiştir.^{331,332} Kuwabara ve ark. kardiyomiyopati hastalarda miR-1 ve miR-133a serum seviyelerinin kreatin fosfokinaz veya kardiyak troponin yüksekliği olmadan önemli derecede yükseldiğini saptamışlardır.³³³ Corsten ve ark. viral miyokardite bağlı gelişen akut kalp yetersizliğinde miR-208 ve miR-499 düzeylerinin artış gösterip enfeksiyondan hemen sonra düzeylerinin azalmasının miyokardiyal hasarı yansıttığını öne sürmüşlerdir.³⁶⁴ Yine bu çalışmada akut kalp yetersizliği gelişen hastalarda sadece miR-499 önemli derecede artış gösterirken (2 kat); miR208-b ve miR-133 istatistiksel olarak önemli olmayan artma eğilimi göstermiştir. Gruplar arasında önemli farklar olmamasına rağmen miR-133 seviyesi NT-pro-BNP düzeyleriyle önemli pozitif korelasyon gösterdiğinden akut kalp yetersizliğinde önemli prognostik marker olarak bildirilmiştir.³³⁴ Corsten ve ark. akut MI'de miR-208b ve miR-499'un sırasıyla 1600 ve 100 kat plazma seviyesinin yükseldiği, plazma seviyelerinin Troponin T ile korele olduğu ve her ikisinin de ideal biyomarker olabileceğini belirtmişlerdir.³³⁵ Hipertrofi ve kalp yetmezliği modellerinde tutarlı bir şekilde downregüle olan iki miRNA miR-133 ve miR-30'dur.³³⁶ Yapılan çalışmalarda patolojik hipertrofide miR-21, miR-23a, miR-24, miR-125, miR-129, miR-199, miR-208 ve miR-212'nin up-regüle oldukları; diğer yandan miR-1, miR-133, miR-29, miR-30 ve miR-150'nin sıklıkla down-regüle oldukları bulunmuştur.³³⁷ Bizim çalışmamızda ise **miR-499a-5p**, **miR-1**, **miR-133b** ve **miR-24-3p** düzeyleri romatizmal karditli hastalarla kontrol grubu arasında benzerdi.

MiR-125b, insan embriyonik kök hücrelerinin miyokardiyal prekürsörlere ve kardiyomiyositlere dönüşümünde önemlidir. MiR-125b'nin aşırı salınımının, erken kardiyak transkripsiyon faktörleri olan GATA4 ve Nkx2-5 düzeylerinde artışa yol açtığı, ayrıca insan embriyonik kök hücrelerinden köken alan miyokardiyal öncül hücrelerin embriyonik kardiyomiyosit fenotipine dönüşmesini hızlandırdığı belirlenmiştir. Bu bulgular; miR-125b yolağının manipülasyonu ile insan embriyonik kök hücre-kaynaklı kardiyomiyositleri etkilemenin mümkün olacağını ve hücre tedavisi uygulamaları açısından bunun bir umut ışığı olabileceğini göstermektedir.³³⁸ Kalp yetersizliği olan hastalarda miR-107, miR-139 ve miR-142-5p düzeylerinin non-iskemik kardiyomyopati ve iskemik kardiyomyopati hastalarında downregüle olduğu görülmüştür. miR-142-3p ve miR-29b düzeyleri non-iskemik kardiyomyopati'de artarken; miR-125b ve miR-497 iskemik kardiyomyopati hastalarında ise

azalmıştır.³³⁹ Bizim çalışmamızda ise grupların **miR-125b-5p** ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı.

MiR-21, kalpteki birçok hücre tipinde gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Fibroblast hücrelerinde profibrotik olan MiR-21, kardiyomiyositlerde anti-apoptotik, endotel hücrelerinde anti-anjiyojenik, immün hücrelerde ise anti-inflamatuar rol üstlenmektedir.³⁴⁰ Ankilozan spondilit'li hastaların T hücrelerinde miR-16, miR-221 ve let-7i' nin kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olduğunu gösterilmiştir.³⁴¹ Ülseratif kolit ve Crohn hastalarında yapılan çalışmalarda Wu F ve arkadaşları miR-16 ve miR-21'in aktif doku biyopsi örneklerinde yüksek olarak eksprese olduğunu gösterebilirler de bu yüksekliği periferik kanda gösterememişlerdir.³⁴² miR-126 ve miR-21 allerjik akciğer inflamasyonu ile ilişkili bulunmuştur.³⁴³ Ayrıca, miR-21'in sistemik lupus eritematozus ile ilişkili olduğu ve T regülatör hücre gelişiminde önemi olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur.^{344,345} MiR-21, bir dizi kardiyak stres durumunda en güçlü upregüle olan miRNA'lar arasında yer almaktadır.¹⁸⁴⁻¹⁸⁶ Kardiyak hasara yanıt olarak miR-21'in upregülasyonunun ERK-MAP kinaz sinyalini artırdığı ve böylece fibroblast proliferasyonuna ve fibrozise yol açtığı gösterilmiştir.¹⁸⁷ Çalışmalardan anlaşılacağı üzere miR-16-5p, miR-221-3p ve miR-21-5p'nin enflamatuar hastalıklarda önemli olduğu sonucu çıkarılabilir. Çalışmamızda romatizmal karditli hastalarda **miR-21-5p** ve **miR-221-3p** düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamasına karşın **miR-16-5p**'ye düzeyinde hasta grubunda kontrol grubuna göre 1.46 kat anlamlı azalma bulundu.

MiR-16 ankilozan spondilit, ülseratif kolit gibi hastalıklarda artmasına karşın bu çalışmada beklenenin tersine romatizmal karditli hastalarda down regüle olduğu izlendi.

Son yıllarda, endotelial hücre fonksiyonlarını ve anjiyogenezisi regüle eden birkaç spesifik miRNA tanımlanmıştır. Pro-anjiyogenik miRNA'lar let7f ,miR-27b, miR-17-92 kümesi, miR-126, miR-130a, miR-210 ve miR-378'i içermektedir.³⁴⁶⁻³⁵² Diğer yandan miR-15/16, miR-20a/b, miR-92a ve miR-221/222 içeren miRNA'lar anti-anjiyogenik etkiler göstermektedir.³⁵³⁻³⁵⁷ MiR-15/107 grubu, miR-17~92 dizisi, miR-21, miR-132, miR-296, miR-378 ve miR-519c tümör anjiyogenezinde ve diğer angiogenez süreçlerinde yer alan miRNA'lardır.³⁵⁸⁻³⁶⁴ Ayrıca, miR-92a'nın KAH'da down regüle olduğu görülmüştür.³¹⁹ Endotelial hücre fonksiyonları ve anjiyogenezisi regüle eden birkaç spesifik miRNA tanımlanmıştır. Pro-anjiyogenik miRNA'lar let7f, miR-27b, miR-17-92 kümesi, miR-126, miR-130a, miR-210 ve miR-378'i içermektedir.³⁶⁵⁻³⁷⁰ MiR-

15/16, miR-20a/b, miR-92a ve miR-221/222 içeren miRNA'lar anti-anjiogenik etkiler göstermektedir.³⁷¹⁻³⁷⁵ Çalışmalarda miR-92a-3p bazı kalp hastalıklarında koruyucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada da, **miR-132-3p** düzeyleri değişmemekle birlikte diğer çalışmalara paralel olarak hasta grubunda **miR-92a-3p**'ye ait ekspresyon düzeyinde 1.27 kat azalma olduğu gözlemlendi.

Mİ geçiren kalp dokusu örneklerinde bazı miRNA ekspresyonlarının değiştiği belirlenmiştir. Mİ sonrası ilk haftada miR-146a ve miR-155 en yüksek düzeylere çıkarken; miR-150 ekspresyonu ise en düşük düzeylere inmiştir.³⁷⁶ Mİ sonrası ilk haftada görülen bu değişimler akut inflamatuvar yanıt ile ilişkilendirilebilir.³⁷⁷ MiRNA-150 doğal immün yanıtla düzeyi azalan bir moleküldür, ancak Mİ durumundaki hedefleri net olarak bilinmemektedir.³⁷⁸ Mİ sonrası ventrikül rüptürü gelişen hastalarda miR-150 ve miR-155 düzeylerinde azalma saptanırken; miR-146a düzeyinde ise artış olduğu kaydedilmiştir. Bu çalışmada **miR-150-5p** ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol grubunda benzer bulundu.

Gestasyonel 12-14. haftalarda fetal insan kalp örneklerinde MiR-196a bulunmuştur.³⁷⁹ Bu miRNA, kardiyak septalanma, akım yolunun oluşumu ve kalp kapakçıklarının gelişimi gibi süreçlerde gerekli olan HOXB8-Shh sinyallerinin düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir.³⁸⁰ Konjenital kalp hastalıkları için prediktör olabileceği saptanmıştır.³⁸¹ Dilate kardiyomiyopati hastalarda, pre-miR-shas-miR-196a2 ve hsa-miR-499'daki tek nükleotid polimorfizmlerinin sık görüldüğü ve risk artışına yol açtığı bildirilmiştir.³⁸² Çalışmamızda **miR-196-5P** düzeyleri hasta ve kontrol grubunda benzerdi.

İdiyopatik dilate kardiyomiyopati çocuk hastalarda da miR-130b, miR-204, miR-331-3p, miR-188-5p, miR-1281, miR-572, miR-765, miR-223, miR-125a-3p ve miR-1268 düzeylerinin azaldığı saptanmıştır.³⁸³ Ancak bu çalışmada **miR-204-5p** ve **miR-130b-3p** ekspresyon düzeyleri gruplar arasında benzerdi.

Bazı çalışmalar miR-146 ile otoimmünite arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. T regülatör hücrelerinde miR-146a'nın seçici ablasyonunun immün toleransın bozulmasına ve otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olduğunu göstermişlerdir.³⁸⁴ Pauley ve ark. ise romatoid artritli hastalarının periferik kanlarında miR-146, miR-155 ve miR-16 düzeylerinin upregüle olduğunu göstermişlerdir.³⁸⁵ Hsieh ve ark.'ları da hücre kültüründe miR-146a'nın insan mikrovasküler endotel hücrelerinde bulunduğu ve anjiogenez ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.³⁸⁶ Bizim çalışmamızda ise **miR-146a-5p** ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol grubunda

benzer saptandı.

Kardiyomiyosit ölümü/apoptozis, iskemik kalplerdeki kilit hücrel olaydır. MiRNA ekspresyonunun iskemik kalplerdeki etkisini göstermek için oluşturulan fare modellerinde miR-320 ekspresyonunun iskemik kalplerde disregüle olduğu gösterilmiştir.³⁸⁷ Bilinen bir kalp koruyucu protein olarak heat-shock protein 20'yi (HSP20) miR-320'nin hedefi olarak tanımlamışlardır. Endojen miR-320'nin etkisiz hale getirilmesi, HSP20'yi hedef alarak iskemi/reperfüzyon ile indüklenen kardiyomiyosit ölümüne ve apoptosize karşı koruma sağlamaktadır. Literatürde miR-320a ekspresyonunun daha çok lupus nefritiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dai ve ark. böbrek biyopsi dokusunda miR-320'nin daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir.³⁸⁸ Bizim çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubu arasında **miR-320a** ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

MiR-223'ün bağışıklık hücre fonksiyonları, nötrofil proliferasyonu ve aktivasyonu için bir düzenleyici olarak işlev gördüğü bilinmektedir.³⁸⁹ Deneysel bir çalışmada, miR-223 eksikliğinin inflamatuvar akciğer patolojisine neden olduğu rapor edilmiştir.³⁹⁰ Bu çalışmada **miR-223-3p** ekspresyon düzeylerinin hasta grubunda 1.46 kat azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışma sonucunda mir-223-3p eksikliğinin romatizmal karditli hastalardaki inflamatuvar süreçte rol alabileceği düşünüldü.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada kontrol grubuna göre hasta grubunda *hsa-miR-16-5p'* ye ait ekspresyon düzeyinde 1.46 kat azalma olduğu belirlendi.

Kontrol grubuna göre hasta grubunda *hsa-miR-223-3p'* ye ait ekspresyon düzeyinde 1.46 kat azalma saptandı.

Kontrol grubuna göre hasta grubunda *hsa-miR-92a-3p'* ye ait ekspresyon düzeyinde 1.27 kat azalma olduğu görüldü.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-221-3p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-24-3p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-320a* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-21-5p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-155-5p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-132-3p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-146a-5p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-1* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-125b* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-196a-5p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında *hsa-miR-130b-3p* ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR-133b ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR150-5p ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR-204-5p ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR-203a ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR-10a-5p ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hsa-miR-499a-5p ekspresyon düzeyinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hastaların LA alanı, LVEDD ve EDV değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

Hasta ve kontrol grubu gelir durumu açısından karşılaştırıldığında hasta grubunun gelir düzeyinin daha düşük olduğu belirlendi.

Bu çalışmada romatizmal karditli hastalarda mir-16-5p, mir-92a-3p ve mir-223-3p ekspresyon düzeylerinde down regülasyon saptanmıştır. Bu miRNA'ların ülkemizde ciddi bir sorun olan romatizmal karditli hastalarda koruyucu olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma sonucunda ileride down regüle miRNA kokteyli ve gen tedavileri ile miRNA ların düzeyini arttırarak romatizmal karditin önlenilmesi, tedavi edilebilmesi fikri gündeme gelebilir. Ancak bu miRNA'ların romatizmal karditte koruyucu miRNA'lar olduğunu söyleyebilmek için daha ileri ve geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011; 123:933–944.
2. Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nat Rev Genet*. 2008; 9:831–842.
3. Rota R, Ciarapica R, Giordano A, Miele L, Locatelli F. MicroRNAs in rhabdomyosarcoma: pathogenetic implications and translational potentiality. *Mol Cancer*. 2011; 10:120.
4. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*. 2010; 11:597–610.
5. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009; 136:215–233.
6. Cai B, Pan Z, Lu Y. The roles of microRNAs in heart diseases: a novel important regulator. *Curr Med Chem*. 2010; 17:407–411.
7. Health system: improving performance. In: *The World Health Report 2001*. Geneva, World Health Organization, 2001: 144-145.
8. Galal ME, Medhat ME, Khalid AS, Howaida GE. Rheumatic fever and rheumatic heart disease. In: *The Science and practice of Pediatric Cardiology*. Garson A, Bricker JT, Fisher DJ, Neish SR (eds). 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998; 1691-1724.
9. Tani LY. Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease. In: Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF, editors. *Moss and Adam's Heart Disease in Infants, Children and Adolescents*, 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008:1256-80.
10. Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):17-23.
11. Olivier C. Rheumatic fever-is it still a problem? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000; 45: 13-21
12. Goldenberg J, Ferraz MB, Fonseca AS, Hilario MO, Bastos SS. Sydenham chorea: clinical and laboratory findings. Analysis of 187 cases. *Rev Paul Med*, 1992: 110(4); 152-7

- 13.** Bayoğlu M.V. İlk Kez Akut Romatizmal Ateş Tanısı Alan Hastaların Epidemiyolojik, Klinik ve Laboratuvar Yönünden Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi 2006.
- 14.** Veasy L G, Robert E, Herbert D. Rheumatic fever reports increasing in the Utah area. American Heart Association, 1998: 8-11.
- 15.** Rutstein DD, Dorfman A, Keith JD, Lichty JA. The evolution of rheumatic heart disease in children. *Circulation*, 1960: 22; 503-515
- 16.** Padmavati S. Rheumatic fever and rheumatic heart disease in developing countries. Historical data. *Bulletin of the World Health Organization*, 1978: 56(4); 543-550
- 17.** Rheumatic fever and rheumatic heart disease. WHO Technical Report Series. 2001; 923, Geneva
- 18.** Emmanouilides GC: Moss and Adams, Heart Disease in Infants, Children and Adolescents. Fifth edition, Maryland: 2001.
- 19.** Ayoub EM. Rheumatic Fever-Rheumatic Heart Disease. In: Adams FH, Emmanouilides GC, Riemenscheider TA (eds). Moss' Heart Disease in Infant, Children and Adolescent (5th ed). Baltimore Willams and Wilkins, 1995: 1400–1440.
- 20.** Bernstein D. Rheumatic Heart Disease. in: Behrman RE, Kliegman RM, Johnson HB (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16 th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000; pp: 1428-1430.
- 21.** Cassidy JR, Petty RE. Arthritis related to infection. *Textbook of Pediatric Rheumatology* (2nd ed). Churchill Livingstone Inc. 1990:509-521.
- 22.** Carapetis JR. The current evidence for the burden of group A streptococcal diseases. WHO/FCH/ CAH/05-07. Geneva: World Health Organization, 2004: 1
- 23.** Imamoglu A, Ozen S: Epidemiology of rheumatic heart disease. *Arch Dis Child*. 1988; 63:1501-3.
- 24.** Tami LY, Veasy LG, Minich LL, Shaddy RE. Rheumatic fever in children younger than 5 years: is the presentation different *Pediatrics* 2003; 112: 1065–1068
- 25.** Carapetis JR, Currie BJ, Mathews JD. Cumulative incidence of rheumatic fever in an endemic region: a guide to the susceptibility of the population? *Epidemiol Infect* 2000; 124: 239–244
- 26.** Anita K, Zaidi M, Goldman DA. Rheumatic fever in *The Nelson Textbook of Pediatrics*. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF eds. WB Saunders Company. 18 th edition. Philadelphia 2007: 1140-1145.

- 27.** Quinn A, Kosanke S, Fichetti VA, Factor SM, Cunningham MW. Induction of autoimmune valvular heart disease by recombinant streptococcal M protein. *Infect Immun* 2001; 69:4072-8.
- 28.** Kaplan EL. Pathogenesis of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease; evasive after half a century of clinical, epidemiological and laboratory investigation. *Heart* 2005; 91:3-4.
- 29.** Fae KC, Oshiro SE, Toubert A, Charron D, Kalil J, Guilherme L. How on autoimmune reaction triggered by molecular mimicry between streptococcal M protein and cardiac tissue proteins leads to heart lesions in rheumatic heart disease. *J Autoimmune* 2005; 24:101-9.
- 30.** Balat A, Kılınç M, Cekmen MB, et al. Adrenomedullin and total nitrite levels in children with acute rheumatic fever. *Clin Biochem* 2005; 38:526-30.
- 31.** Blank M, Aron-maor A, Shoenfeld Y. From rheumatic fever to Libmann Sacks endocarditis: is there any possible link? *Lupus* 2005; 14:697-701.
- 32.** Stolleman GH. Rheumatic fever in the 21th century. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 33:806-814.
- 33.** İ. Levent Saltık. Akut Romatizmal Ateş. *The Journal of Current Pediatrics*. March 2007; 5.
- 34.** Li Y, Pon Z, Ji Y, Zhang H, Archard LC. Herpes simplex virus type 1 infection in rheumatic valvar disease. *Heart* 2005; 91:87-88.
- 35.** Sema Özer. Hacettepe Üniv. Ped. Kardiyoloji. Ders notları (yayımlanmamış). www.medinfo.hacettepe.edu.tr
- 36.** Tunger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Streptokoklar ve Enterokoklar. *Mikrobiyoloji*, 2. Baskı, Asya Tıp Yayıncılık, İzmir, 2002:51-68.
- 37.** Levinson W, Jawetz E. Gram pozitive cocci in *Medical Microbiology and Immunology*, a Lange medical book, 5th ed, Simon&Schuster co., Stanford Connecticut, 1998:78-86.
- 38.** Ayoup EM, Marjeed HA. Poststreptococcal reactive arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12:306-10.
- 39.** El Said GM, Sanour KA. Acute Rheumatic Fever. In *The Science and Practice of Pediatric Cardiology*. Garson A, Bricker JT, Mcnamara DG, eds. Lea and Febiger. Philadelphia/ London; 1990: 1485-1500.
- 40.** Daie JB and Beachey FH. Multiple Heart Cross-reactive epitopes of streptococcal M proteins. *J. Exp. Med* 1985; 161:113.

- 41.** Khanna AK, Buskirk DR. Presence of a non-HLA B cell antigen in rheumatic fever patients and their families as defined by a monoclonal antibody. *J Clin Invest* 1989; 83:1710-16.
- 42.** Kaur S, Kumar D, Grover A. Ethnic differences in expression of susceptibility marker(s) in rheumatic fever/rheumatic heart disease patients. *Int J Cardiol* 1998; 64(1); 9-14.
- 43.** Kumar D, Kaur S. Further observation and characterization of monoclonal antibodies reacting with B cell alloantigens associated with rheumatic fever and rheumatic heart disease. *J Lab Clin Med* 2000; 135; 287-93.
- 44.** Asay A, Giles R, Veasy LG, Hill HR, Ware J, Nichols CR. Acute rheumatic fever-Utah. *MMWR* 1987; 36; 108-10,115.
- 45.** Yegin O, Coskun H. Cytokines in acute rheumatic fever. *Eur J Pediatr* 1997; 156:25-29.
- 46.** Ayoub EM. Acute rheumatic fever. In: Moss and Adams' Heart Disease in infants, children and adolescents. Allen HD, Gutgesel HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds). 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 1226-41.
- 47.** Kamblock J, Payot L, Lung B, et al Does rheumatic myocarditis really exist? Systematic study with echocardiography and cardiac troponin I blood levels. *Eur Heart J* 2003; 24: 855-862.
- 48.** Williams RV, Minich LL, Shaddy RE, et al. Evidence for lack of myocardial injury in children with acute rheumatic carditis. *Cardiol Young* 2002; 12: 519-523.
- 49.** Narula J, Chopra P, Talwar KK, et al. Does endomyocardial biopsy aid in the diagnosis of active rheumatic carditis? *Circulation* 1993; 88: 2198-2205.
- 50.** Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Valvular Heart Disease. *Robbins Basic Pathology* (6th edition), Saunders, 2000; 321-325
- 51.** Special Writing Group of the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young the American Heart Association. Dajani AS, Ayooub E, Bierman FZ, et al. Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever. Jones criteria, 1992 update. *JAMA* 1992, 268:2069-2073.
- 52.** Tutar E. Akut romatizmal ateş. Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A (edt). *Türk Milli Pediatri Derneği temel pediatri*. 2010; 759-763.

- 53.** Gerber MA. Rheumatic fever. In:Kliegman RE, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF (eds). Nelson textbook of pediatrics, 18th ed. Philadelphia: Saunders 2007; 1140-1145
- 54.** Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever. Jones Criteria, 1992 update. Special Writing Group of the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young of the American Heart Association. JAMA 1992; 268: 2069-2073.
- 55.** Gerber MA, Baltimore RS, Eaton CB et al. Prevention of rheumatic fever and diagnosis and treatment of acute Streptococcal pharyngitis: a scientific statement from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, the Interdisciplinary Council on Functional Genomics and Translational Biology, and the Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. Circulation 2009; 119: 1541-1551.
- 56.** Ortiz EE. Acute rheumatic fever. In Anderson RH, Baker EJ, Macartney FJ, Rigby ML, Shinebourne EA, Taynan M (eds). Paediatric Cardiology. New York: Churchill Livingstone, 2002: 1713-1732.
- 57.** Stollerman GH. Rheumatic fever and other rheumatic diseases of the heart. In Braunwald E (ed). Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 1721–1762.
- 58.** Gerber MA. Group A streptococcus. In Nelson W. Behrman R. Kliegman RM. Jenson HB. Stanton BF (Eds). Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2007:1139-1144
- 59.** Olgun H, Ceviz N. Unusual rhythm problems in acute rheumatic fever: two patient reports. Clin Pediatr 2004; 43: 197-199.
- 60.** Otto CM. Valvular regurgitation= diagnosis quantitation and clinical approach. Text Book of clinical echocardiography. Second edition. Saunders Company; 2000, pp. 265-300.
- 61.** Demiroren K, Oran B. Sydenham koresi. Genel Tıp Derg 2002; 12: 87-87.
- 62.** Figen Akalın. Akut Romatizmal Ateş ve Yenilikler. Türk Pediatri Arşivi. 2007. 85-93 .
- 63.** Kaplan EL, Antony BF, Chapman SS, Ayoub EM, Wannamaker LW. The influence of site of infection on the immune response to group A streptococci. J Clin Invest 1970; 49: 1405-1414.

- 64.** Wessels MR. Clinical practice. Streptococcal pharyngitis. *N Engl J Med* 2011; 364: 648-655.
- 65.** Roy SB, Sturgis GP, Mossel BF. Application on the antistreptolysin-o titer in the evaluation of joint pain and in the diagnosis of rheumatic fever. *N Eng J M* 1956; 254: 95-102.
- 66.** Carapetis JR, Currie BJ. Rheumatic fever in a high madence population= the importance of monoarthritis and low grade fever. *Arch Dis Child* 2001; 85: 223-227.
- 67.** Rheumatic fever and rheumatic heart disease. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2004;23:1-122
- 68.** Carapetis JR, Hardy M, Fakakovikaetau T, Taib R, Wilkinson L, Penny DJ, et al. Evaluation of a screening protocol using auscultation and portable echocardiography to detect asymptomatic rheumatic heart disease in Tongan schoolchildren. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5:411-7.
- 69.** Bhaya M, Panwar S, Beniwal R, Panwar RB. High prevalence of rheumatic heart disease detected by echocardiography in school children. *Echocardiography* 2010;27:448-53.
- 70.** Marijon E, Ou P, Celermajer DS, Ferreira B, Mocumbi AO, Jani D, et al. Prevalence of rheumatic heart disease detected by echocardiographic screening. *N Engl J Med* 2007;357:470-6.
- 71.** Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in Mmode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 978;58:1072-83.
- 72.** Tutar E. Acute Rheumatic Fever and Poststreptococcal Reactive Arthritis. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2008; 4(3):107-13.
- 73.** Geber MA: Rheumatic fever, in Behrman RE, Kliegman RE, Arvin AM (eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*, 18th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co, 2004; pp 1140-5.
- 74.** WHO. Rheumatic fever and Rheumatic heart disease. Report of a WHO Expert Consultation Geneva. 2003; 3-8,13-17, 20-37, 85.
- 75.** Karaaslan S, Demirören S, Oran B et al. Criteria for judging the improvement in subclinical rheumatic carditis. *Cardiol Young* 2003; 13: 500-505
- 76.** Meira ZMA, Goulart EMA, Mota CCC. Comparative study of clinical and doppler echocardiographic evaluations of the progression of valve diseases in children and adolescents with rheumatic fever. *Arq Bras Cardiol* 2006; 86: 32-38.

- 77.** Carapetis JR, Mc Donald M, Wilson N. Acute rheumatic fever. *Lancet* 2005; 366: 155-166
- 78.** Sanyal SK, Berry AM, Duggal S, et al. Sequelae of the initial attack of acute rheumatic fever in children from North India: A prospective 5-years follow-up study. *Circulation*. 1982; 65: 375-9
- 79.** Secord E, Emre U, Shah BR, Tunnessen Jr. WW. Picture of the month: Erythema marginatum in acute rheumatic fever. *Am J Dis Child* 1992; 146: 637.
- 80.** Figueroa F, Gonzalez M, Carrion F, Lobos C, Turner F, Lasagna N, et al. Restriction in the usage of variable beta regions in T-cells infiltrating valvular tissue from rheumatic heart disease patients. *J Autoimmün* 2002; 19: 233–40.
- 81.** Ayşe Güler Eroğlu. Akut Romatizmal Ateş. *Klinik Gelişim Çocuk ve Ergenlik Çağı Romatizmal Hastalıklar özel sayısı* 2006; 19(1).
- 82.** Binotto MA, Guilherme L, Tanaka AC. Rheumatic Fever. *Images Pediatr Cardiol* 2002; 11:12-25.
- 83.** Massell BF, Chute CG, Walker AM, et al. Penicillin and the marked decrease in morbidity and mortality from rheumatic fever in the United States. *N Engl J Med* 1988; 318:280–286.
- 84.** Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes FT. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescents*. 8th Ed., Philadelphia: Wolters Kluwer-Lippincott Williams&Wilkins, 2013:1303-1330
- 85.** Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Cochrane* 2009.
- 86.** Saleh Altamimi, Adli Khalil, Khalid A Khalaiwi, Ruth A Milner, Martin V Pusic, Mohammed A Al Othman. Short versus standard duration antibiotic therapy for acute streptococcal pharyngitis in children.
- 87.** Lue HC, Wu MH, Wang JK, Wu FF, Wu YN. Longterm outcome of patients with rheumatic fever receiving benzathine peniciline G prophylaxis every three weeks versus every four weeks. *J Pediatr* 1994; 125:812-816.
- 88.** Park H, Cleary PP. Active and passive intranasal immunizations with streptococcal surface protein C5a peptidase prevent infection of murine nasal mucosa-associated lymphoid tissue, a functional homologue of human tonsils. *Infection and Immunity* 2005; 73:7878-86.

- 89.** Brandt ER, Good MF. Vaccine strategies to prevent rheumatic fever. *Immunol Res* 1999; 19:89-103.
- 90.** Thatai D, Turi ZG. Current Guidelines for the Treatment of patients with Rheumatic Fever. *Drugs* 1999; 57:545-55.
- 91.** Benson GD. Hepatotoxicity following the therapeutic use of antipiretic analgesics. *Am J Med* 1983 14; 75:85-93.
- 92.** Cersosimo RJ, Matthews SJ. Hepatotoxicity associated with choline magnesium trisalicylate: Case report and review of salicylate induced hepatotoxicity. *Drug Intell Clin Pharm* 1987; 21:621-5.
- 93.** Prescott LF. Effects of non-narcotic analgesics on the liver. *Drugs* 1986; 32:129-47.
- 94.** Zimmerman H J. Effects of aspirin and acetaminophen on the liver. *Arch Intern Med* 1981; 141:333-42.
- 95.** O'Conner N, Dargon PI, Jones AL. Hepatocellular damage from non-steroidal anti-inflammatory drugs. *QJM* 2003; 96:787-91.
- 96.** Rich RR, Johnson JS. Salicylate hepatotoxicity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1973; 16:1-9.
- 97.** Tolman KG, Peterson P, Gray BS, Hammer SP. Hepatotoxicity of salicylates in monolayer cell cultures. *Gastroenterology* 1978; 74:205-8.
- 98.** Turgut NH, Söylemezoğlu T. Aspirinin hepatotoksik etkisi ve Reye sendromu. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2011; 33:125-132.
- 99.** Ciliers AM, Manyemba J, Saloojee HH. Anti-inflammatory treatment for carditis in acute rheumatic fever. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (2): CD 00 3176.
- 100.** Karademir S, Oguz D, Senocak F, Ocal B, Karakurt C, Cabuk F. Tolmetin and salicylate therapy in acute rheumatic fever: Comparison of clinical efficacy and side-effects. *Pediatrics International* 2003; 45: 676-9.
- 101.** Ozer S, Hallioglu O, Ozkutlu S, Celiker A, Alehan D, Karagoz T. Childhood acute rheumatic fever in Ankara, Turkey. *Turk J. Pediatr* 2005; 47 :120-4.
- 102.** Daoud AS, Zaki M, Shakir R, AL Saleh Q. Effectiveness of sodium valproate in the treatment of Sydenham's chorea. *Neurology* 1990; 40:1140-1.
- 103.** Genel F, Arslanoglu S, Uran N, Saylan B. Sydenham's chorea; clinical findings and comparison of the efficacies of sodium valproate and carbamazepine regimens. *Brain Dev* 2002; 24:73-76.

- 104.** Moss and Adams; Heart disease in infants, Children, and Adolescents; Philadelphia: 2013 sayfa;1319-1324
- 105.** Anita K, Zaidi M, Goldman DA. Rheumatic fever in The Nelson Textbook of Pediatrics. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF eds. WB Saunders Company. 18 th edition Philadelphia 2007: 1140-1145.
- 106.** Veasy LG. Rheumatic Fever. T. Duckett Jones and the rest of the story. Cardiol Young 1995; 5:293-391.
- 107.** Narula J, Chopra P, Talwar KK, Et al. Does endomyocardial biopsy aid in the diagnosis of active rheumatic carditis. Circulation 1993; 88:2198-205.
- 108.** Polat TB, Yalçın Y, Akdeniz C, et al. QT dispersion in acute rheumatic fever. Cardiol Young 2006; 16:141-6.
- 109.** Mohindro R, Pannu HS, Mohan B, Et al. Syncope in a middle aged male due to acute rheumatic fever. Indian Heart J 2004; 56:668-9.
- 110.** Kula S, Olguntürk R, Özdemir O. Two unusual presentations of acute rheumatic fever. Cardiol Young 2005 ; 15:514-6.
- 111.** Unal N, Kosecik M, Saylam S, Kir M. Paytoncu S, Kumtepe S. Cardiac tamponade in acute rheumatic fever. Int J Cardiol 2005; 103:217-8.
- 112.** Writing group of comittee on rheumatic fever, endocarditis, and Kawasaki Disease of the counsil on cardiovascular disease in the young of the American Heart Association. Guidelines for the diagnosis of acute rheumatic fever. Jones criteria 1992 update. Jama 1992; 268:2069-73.
- 113.** Ayabakan C, Akalın F. Akut romatizmal ateşin değişen yüzü. Anadolu Kardiyoloji Dergisi 2004;4:359-60.
- 114.** Markowitz M, Kaplan EL. Rheumatic Fever. Streptococcal İnfections Clinical Aspects, Microbiology and Molecular Pathogenesis 2000;133-143.
- 115.** Bland ER, Jones TD. Rheumatic fever and rheumatic heart disease:a 20 year report on 1000 patients followed since childhood. Circulation 1951; 4:836-43.
- 116.** Narula J, Chandrasekhar Y, Rahimtoola S. Diagnosis of active rheumatic carditis. The echoes ofchange. Circulation 1999; 100:1576-81.
- 117.** Tubridy-Clark M, Carapetis JR. Subclinical carditis in rheumatic fever; A Systematic review. Int J Cardiol 2007; 119:54-8.
- 118.** Özkutlu S, Hallıoğlu O, Ayabakan C. Evaluation of subclinical valvar disease in patients with rheumatic fever. Cardiol Young 2003; 13:495-9.

- 119.** Guide for use of echocardiography in acute rheumatic fever. Erişim: www.nhf.org.nz/files/2013.
- 120.** Onat T. Akut romatizmal ateş ve romatizmal kardit. Romatizmal kardit. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları kitabı. Eksen Basın Yayın. İstanbul. 1999: 558-595.
- 121.** Tani LY. Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease. In: Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF, editors. Moss and Adam's Heart Disease in Infants, Children and Adolescents, 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008:1256-80.
- 122.** Guilherme L, Ramasawmy R, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: genetics
- 123.** Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature 2004; 431: 350-355.
- 124.** Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. Cell 2004; 116: 281-297)
- 125.** Konaç E, Önen Hİ, Sözen S. Üroonkolojide mikroRNA'ların yeri ve önemi. Üroonkoloji Bülteni 2010; 3.
- 126.** Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M et al. MicroRNAs-the micro steering wheel of tumour metastases. Nat Rev Cancer 2009; 9(4): 293-302.
- 127.** He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet 2004; 5: 522-531.)
- 128.** Ho J, Kreidberg JA. MicroRNAs in renal development. Pediatr Nephrol 2012; 10: 467-473.
- 129.** Groothoff JW. Long term outcomes of children with endstage renal disease. Pediatr Nephrol 2005; 20: 849-853.
- 130.** Krediet RT, Balafa O. Cardiovascular risk in the peritoneal dialysis patient. Nat Rev Nephrol 2010; 6: 451-460.
- 131.** James MT, Hemmelgarn BR, Tonelli M. Early recognition and prevention of chronic kidney disease. Lancet 2010; 375: 1296-1309.
- 132.** Lorenzen JM, Haller H, Thum T. MicroRNAs as mediators and therapeutic targets in chronic kidney disease. Nat Rev Nephrol 2011; 7: 286-294.
- 133.** Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogeneor tumor suppressor? Cancer Metastasis Rev. 2009; 28: 369-378.
- 134.** 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: 843-854.

- 135.** Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2011; 294: 797-799.
- 136.** Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *C. elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906.
- 137.** Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408:86-89.
- 138.** Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858.
- 139.** Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419.
- 140.** Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269.
- 141.** Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303: 95-98.
- 142.** Zhang H, Kolb FA, Brondani V, et al. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J* 2002; 21: 5875-5885.
- 143.** Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, et al. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123: 631-640.
- 144.** Sun W, Li YSJ, Huang HD, et al. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 1-27.
- 145.** Small EM, Frost RJA, Olson EN (2010) MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease. *Circulation* 121:1022–1032.
- 146.** Alevizos I, Illei GG (2010) MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 6:391–398.
- 147.** Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, Li K, Yu B, Li Z, Wang R et al (2010) Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun* 391:73–77.
- 148.** Xiao J, Jing ZC, Ellinor PT, Liang D, Zhang H, Liu Y, Chen X, Pan L, Lyon R, Liu Yet al (2011) MicroRNA-134 as a potential plasma biomarker for the diagnosis of acute pulmonary embolism. *J Transl Med* 9:159.
- 149.** Olson EN. Gene regulatory networks in the evolution and development of the heart. *Science*. 2006;313:1922–1927.

- 150.** Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, Qin YW, Jing Q (2010) Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J* 31:659–666.
- 151.** D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, Straino S, Di Carlo A, Brambilla PG, Rubino M, Carena MC, Spazzafumo L, De Simone M et al (2010) Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *Eur Heart J* 31:2765–2773
- 152.** Gidlöf O, Andersson P, van der Pals J, Götberg M, Erlinge D(2011) Cardiospecific microRNA plasma levels correlate with troponin and cardiac function in patients with ST elevation myocardial infarction, are selectively dependent on renal elimination, and can be detected in urine samples. *Cardiology* 118:217–226.
- 153.** Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, Wagner DR, Staessen JA, Heymans S, Schroen B (2010) Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet* 3:499–506.
- 154.** Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, Li K, Yu B, Li Z, Wang R et al (2010) Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun* 391:73–77.
- 155.** Meder B, Keller A, Vogel B, Haas J, Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Just S, Borries A, Rudloff J, Leidinger P et al (2011) MicroRNA signatures in total peripheral blood as novel biomarkers for acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 106:13–23.
- 156.** Zile MR, Mehurg SM, Arroyo JE, Stroud RE, Desantis SM, Spinale FG (2011) Relationship between the temporal profile of plasma microRNA and left ventricular remodeling in patients following myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Genet*. doi:10.1161/CIRC GENETICS.111.959841.
- 157.** Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, Weber M, Hamm CW, Röxe T, Müller-Ardogan M et al (2010) Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res* 107:677–684.
- 158.** Hoekstra M, van der Lans CA, Halvorsen B, Gullestad L, Kuiper J, Aukrust P, van Berkel TJ, Biessen EA (2010) The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease. *Biochem Biophys Res Commun* 394:792–797.

- 159.** Li S, Zhu J, Zhang W, Chen Y, Zhang K, Popescu LM, Ma X, Lau WB, Rong R, Yu X et al (2011) Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection. *Circulation* 124:175–184.
- 160.** Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, Pinto YM (2010) MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res* 106:1035–1039.
- 161.** Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, Goto Y, Iwai N (2010) Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure. *Circ J* 75:336–340.
- 162.** Chen C, Yang SL, Wang F, Long GW, Yang X, Chen FQ, Wang DW (2010) Plasma microRNA-361-5p as a biomarker of chronic heart failure. *Heart* 96:A189.
- 163.** Voellenkle C, van Rooij J, Cappuzzello C, Greco S, Arcelli D, Di Vito L, Melillo G, Rigolini R, Costa E, Crea F et al (2010) Micro-RNA signatures in peripheral blood mononuclear cells of chronic heart failure patients. *Physiol Genomics* 42:420–426.
- 164.** Kuwabara Y, Ono K, Horie T, Nishi H, Nagao K, Kinoshita M, Watanabe S, Baba O, Kojima Y, Shizuta S, Imai M, Tamura T, Kita T, Kimura T. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate the existence of myocardial damage. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4:446–454.
- 165.** Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, Wagner DR, Staessen JA, Heymans S, Schroen B. Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010;3:499 –506.
- 166.** McKinsey TA, Olson EN. Toward transcriptional therapies for the failing heart: chemical screens to modulate genes. *J Clin Invest.* 2005;115(3):538-46.
- 167.** Thum T, Galuppo P, Wolf C, Fiedler J, Kneitz S, van Laake LW, et al. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation.* 2007;116:258-67.
- 168.** Matkovich SJ, Wang W, Tu Y, Eschenbacher WH, Dorn LE, Condorelli G, et al. MicroRNA-133a protects against myocardial fibrosis and modulates electrical repolarization without affecting hypertrophy in pressureoverloaded adult hearts. *Circ Res.* 2010;106:166-75.
- 169.** Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, Qi X, Richardson JA, Bassel- Duby R, et al. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes Dev.* 2008;22:3242-54.

- 170.** Van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2006;103(48):18255-60.
- 171.** Han M, Toli J, Abdellatif M. MicroRNAs in the cardiovascular system. *Curr Opin Cardiol*. 2011;26:181-9.
- 172.** Van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, Richardson JA, Olson EN (2006) A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:18255–18260.
- 173.** Van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN (2007) Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science* 316:575–579.
- 174.** Tatsuguchi M, Seok HY, Callis TE, Thomson JM, Chen JF, Newman M, Rojas M, Hammond SM, Wang DZ (2007) Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 42:1137–1141.
- 175.** Wang Z, Luo X, Lu Y, Yang B. miRNAs at the heart of the matter. *J Mol Med*. 2008 Jul;86:771-83.
- 176.** Ghuran AV, Camm AJ (2001) Ischaemic heart disease presenting as arrhythmias. *Br Med Bull* 59:193–210.
- 177.** Zhang Y, Xiao J,Wang H, Luo X, Wang J, Villeneuve LR, Zhang H, Bai Y, Yang B, Wang Z (2006) Restoring depressed HERG K⁺ channel function as a mechanism for insulin treatment of the abnormal QT prolongation and the associated arrhythmias in diabetic rabbits. *Am J Physiol* 291:1446–1455.
- 178.** Pan ZW, Lu YJ, Yang BF, MicroRNAs: a novel class of potential therapeutic targets for cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2010;31:1-9.
- 179.** Shan H, Zhang Y, Lu Y, Pan Z, Cai B, Wang N, et al. Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodelling in canines. *Cardiovasc Res* 2009; 83: 465–72.
- 180.** Rossi MA. Pathologic fibrosis and connective tissue matrix in left ventricular hypertrophy due to chronic arterial hypertension in humans. *J Hypertens*. 1998; 16:1031–1041.
- 181.** Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O’Loughlin C, Conlon C, Patle A, Donnelly SC, McDonald K. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation*. 2007; 115:888–895.

- 182.** Manabe I, Shindo T, Nagai R. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2002; 91:1103–1113. [PubMed: 12480810].
- 183.** Brown RD, Ambler SK, Mitchell MD, Long CS. The cardiac fibroblast: therapeutic target in myocardial remodeling and failure. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45:657–687.
- 184.** van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, DiMaio JM, Naseem RH, Marshall WS, Hill JA, Olson EN. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105:13027–13032.
- 185.** Ichimura A. miRNAs and regulation of cell signaling. *FEBS-J.* 2011.
- 186.** van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, Richardson JA, Olson EN. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:18255–18260.
- 187.** Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, Galuppo P, Just S, Rottbauer W, Frantz S, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature.* 2008; 456:980–984.
- 188.** Roy S, Khanna S, Hussain SR, Biswas S, Azad A, Rink C, Gnyawali S, Shilo S, Nuovo GJ, Sen CK. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue. *Cardiovasc Res.* 2009; 82:21–29.
- 189.** Park MJ, Kim MS, Park IC, Kang HS, Yoo H, Park SH, Rhee CH, Hong SI, Lee SH. PTEN suppresses hyaluronic acid-induced matrix metalloproteinase-9 expression in U87MG glioblastoma cells through focal adhesion kinase dephosphorylation. *Cancer Res.* 2002; 62:6318–6322.
- 190.** Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, Tsuneyama K, Takano Y. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res.* 2006; 26:3579–3583.
- 191.** Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, Leenders JJ, Lentink V, van der Made I, Herias V, van Leeuwen RE, Schellings MW, Barenbrug P, et al. miR-133 and miR-30

regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ Res.* 2009; 104:170–178. 176p. following 178.

192. Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res.* 2007; 101:59–68.

193. Dews M, Homayouni A, Yu D, Murphy D, Sevignani C, Wentzel E, Furth EE, Lee WM, Enders GH, Mendell JT, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet.* 2006; 38:1060–1065.

194. Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, Richardson JA, Bassel-Duby R, Olson EN. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell.* 2008; 15:261–271.

195. Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, Ivey KN, Bruneau BG, Stainier DY, Srivastava D. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell.* 2008;15:272–284.

196. Chen Y, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miR-130a) that downregulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5. *Blood.* 2008; 111:1217–1226.

197. Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, Melchionna R, Romani S, Pompilio G, Capogrossi MC, Martelli F. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem.* 2008; 283:15878–15883.

198. Lee DY, Deng Z, Wang CH, Yang BB. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104:20350–20355.

199. Hua Z, Lv Q, Ye W, Wong CK, Cai G, Gu D, Ji Y, Zhao C, Wang J, Yang BB, et al. MiRNA-directed regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia. *PLoS One.* 2006; 1:e116.

200. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102:13944–13949.

201. Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M, Koyanagi M, Fischer A, Burchfield J, Fox H, Doebele C, Ohtani K, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science.* 2009; 324:1710–1713.

- 202.** Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, Sessa WC. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res.* 2007; 100:1164–1173.
- 203.** Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, Mercatanti A, Hammond S, Rainaldi G. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood.* 2006;108:3068–3071.
- 204.** Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115–126.
- 205.** Silvestre JS, Mallat Z, Tedgui A, Levy BI. Post-ischaemic neovascularization and inflammation. *Cardiovasc Res.* 2008; 78:242–249.
- 206.** Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105:1516–1521.
- 207.** Ji R, Cheng Y, Yue J, Yang J, Liu X, Chen H, Dean DB, Zhang C. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ Res.* 2007; 100:1579–1588.
- 208.** Liu X, Cheng Y, Zhang S, Lin Y, Yang J, Zhang C. A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia. *Circ Res.* 2009; 104:476–487.
- 209.** Martin MM, Buckenberger JA, Jiang J, Malana GE, Nuovo GJ, Chotani M, Feldman DS, Schmittgen TD, Elton TS. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates microrna-155 binding. *J Biol Chem.* 2007; 282:24262–24269.
- 210.** Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension.* 1994; 24:63–69.
- 211.** Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Kee F, Ducimetiere P, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet.* 1994; 344:910–913.
- 212.** Broderick JA, Zamore PD. MicroRNA therapeutics. *Gene Therapy* 2011; 18: 1104-1110.

- 213.** Bisno AL. Noncardiac manifestations of rheumatic fever. In Narulo J, Virmani R, Reddy KS et al. (eds). *Rheumatic Fever*. Washington, DC: American Registry of Pathology; 1999: 245-256.
- 214.** Schreuder M F. Environmental influences on renal development. *Pediatr Nephrol* 2011; 26:1737.
- 215.** Chen J, Wang DZ. MicroRNAs in cardiovascular development. *J Mol Cell Cardiol*. 2012; 52:949– 957.
- 216.** Ivey KN, Muth A, Arnold J, et al. MicroRNA regulation of cell lineages in mouse and human embryonic stem cells. *Cell stem cell*. 2008; 2:219–229.
- 217.** Callis TE, Chen JF, Wang DZ. MicroRNAs in skeletal and cardiac muscle development. *DNA Cell Biol*. 2007; 26:219–225.
- 218.** Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets hand2 during cardiogenesis. *Nature*. 2005; 436:214–220.
- 219.** Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*. 2006; 38:228–233.
- 220.** Zhao Y, Ransom JF, Li A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miR-1-2. *Cell*. 2007; 129:303–317.
- 221.** Chen JF, Murchison EP, Tang R, et al. Targeted deletion of dicer in the heart leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105:2111–2116.
- 222.** Roberts A, Allanson J, Jadico SK, et al. The cardiofaciocutaneous syndrome. *J Med Genet*. 2006;43:833–842.
- 223.** Perez E, Sullivan KE. Chromosome 22q11. 2 deletion syndrome (DiGeorge and velocardiofacial syndromes). *Curr Opin Pediatr*. 2002; 14:678–683.
- 224.** Huang ZP, Chen JF, Regan JN, et al. Loss of microRNAs in neural crest leads to cardiovascular syndromes resembling human congenital heart defects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:2575–2586.
- 225.** Liu N, Williams AH, Kim Y, et al. An intragenic mef2-dependent enhancer directs muscle-specific expression of micro-RNAs 1 and 133. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104:20844–20849.

- 226.** Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, et al. MicroRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes Dev.* 2008;22:3242–3254.
- 227.** Ventura A, Young AG, Winslow MM, et al. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miR clusters. *Cell.* 2008; 132:875–886.
- 228.** Thum T, Galuppo P, Wolf C, et al. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene programming in heart failure. *Circulation.* 2007; 116:258–267.
- 229.** Goddeeris MM, Rho S, Petiet A, et al. Intracardiac septation requires hedgehog-dependent cellular contributions from outside the heart. *Development.* 2008; 135:1887–1895.
- 230.** O'Brien JE Jr, Kibiryeva N, Zhou XG, et al. Noncoding RNA expression in myocardium from infants with tetralogy of fallot. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012; 5:279–286.
- 231.** Yu ZB, Han SP, Bai YF, Zhu C, Pan Y, Guo XR. MicroRNA expression profiling in fetal single ventricle malformation identified by deep sequencing. *Int J Mol Med.* 2012; 29:53–60.
- 232.** Kuhn DE, Nuovo GJ, Martin MM, et al. Human chromosome 21-derived miRs are overexpressed in down syndrome brains and hearts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 370:473–477.
- 233.** Latronico MV, Catalucci D, Condorelli G. MicroRNA and cardiac pathologies. *Physiol Genomics.* 2008; 34:239–242.
- 234.** Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H, Kim VN. The drosha-dgcr8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev.* 2004; 18:3016–3027. Omran et al. Page 11.
- 235.** Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome. *Obes Rev.* 2010; 11:354–361.
- 236.** Qin L, Chen Y, Niu Y, et al. A deep investigation into the adipogenesis mechanism: profile of microRNAs regulating adipogenesis by modulating the canonical wnt/beta-catenin signaling pathway. *BMC genomics.* 2010; 11:320.
- 237.** Kim SY, Kim AY, Lee HW, et al. Mir-27a is a negative regulator of adipocyte differentiation via suppressing ppargamma expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 392:323–328.

- 238.** Kim YJ, Hwang SJ, Bae YC, Jung JS. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF-beta signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Stem Cells*. 2009; 27:3093–3102.
- 239.** Esau C, Kang X, Peralta E, et al. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem*. 2004; 279:52361–52365.
- 240.** Karbiener M, Fischer C, Nowitsch S, et al. MicroRNA miR-27b impairs human adipocyte differentiation and targets PPARgamma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 390:247–251.
- 241.** Andersen DC, Jensen CH, Schneider M, et al. MicroRNA-15a fine-tunes the level of delta-like 1 homolog (DLK1) in proliferating 3T3-L1 preadipocytes. *Exp Cell Res*. 2010; 316:1681–1691.
- 242.** Trajkovski M, Hausser J, Soutschek J, et al. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature*. 2011; 474:649–653.
- 243.** Wilfred BR, Wang WX, Nelson PT. Energizing miRNA research: a review of the role of miRNAs in lipid metabolism, with a prediction that miR-103/107 regulates human metabolic pathways. *Mol Genet Metab*. 2007; 91:209–217.
- 244.** Lin Q, Gao Z, Alarcon RM, Ye J, Yun Z. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. *FEBS J*. 2009; 276:2348–2358.
- 245.** Wang T, Li M, Guan J, et al. MicroRNAs miR-27a and miR-143 regulate porcine adipocyte lipid metabolism. *Int J Mol Sci*. 2011; 12:7950–7959.
- 246.** Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009; 136:215–233.
- 247.** Kinoshita M, Ono K, Horie T, et al. Regulation of adipocyte differentiation by activation of serotonin (5-ht) receptors 5-ht2ar and 5-ht2cr and involvement of microrna-448-mediated repression of klf5. *Mol Endocrinol*. 2010; 24:1978–1987.
- 248.** Natarajan R, Putta S, Kato M. MicroRNAs and diabetic complications. *J Cardiovasc Transl Res*. 2012; 5:413–422.
- 249.** Poy MN, Spranger M, Stoffel M. MicroRNAs and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetes Obes Metab*. 2007; 12:67–73.
- 250.** Tang X, Muniappan L, Tang G, Ozcan S. Identification of glucose-regulated miRs from pancreatic{beta} cells reveals a role for miR-30d in insulin transcription. *RNA*. 2009; 15:287–293.
- 251.** Teran-Garcia M, Bouchard C. Genetics of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007; 32:89–114.

- 252.** Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Non-cardiomyocyte microRNAs in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2012; 93:573–582.
- 253.** Martinez J, Patkaniowska A, Urlaub H, Luhrmann R, Tuschl T. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. *Cell.* 2002; 110:563–574.
- 254.** Matkovich SJ, Van Booven DJ, Youker KA, et al. Reciprocal regulation of myocardial microRNAs and messenger RNA in human cardiomyopathy and reversal of the microRNA signature by biomechanical support. *Circulation.* 2009; 119:1263–1271.
- 255.** Topkara VK, Mann DL. Clinical applications of miRNAs in cardiac remodeling and heart failure. *Per Med.* 2010; 7:531–548.
- 256.** Ernst A, Campos B, Meier J, et al. De-repression of CTGF via the miR-17-92 cluster upon differentiation of human glioblastoma spheroid cultures. *Oncogene.* 2010; 29:3411–3422.
- 257.** Schellings MW, Vanhoutte D, van Almen GC, et al. Syndecan-1 amplifies angiotensin ii-induced cardiac fibrosis. *Hypertension.* 2010; 55:249–256.
- 258.** van de Vrie M, Heymans S, Schroen B. MicroRNA involvement in immune activation during heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2011; 25:161–170.
- 259.** Satoh M, Minami Y, Takahashi Y, Tabuchi T, Nakamura M. A cellular microRNA, let-7i, is a novel biomarker for clinical outcome in patients with dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2011;17:923–929.
- 260.** Gurha P, Abreu-Goodger C, Wang T, et al. Targeted deletion of microRNA-22 promotes stress-induced cardiac dilation and contractile dysfunction. *Circulation.* 2012; 125:2751–2761.
- 261.** Reddy S, Zhao M, Hu DQ, et al. Dynamic microRNA expression during the transition from right ventricular hypertrophy to failure. *Physiol Genomics.* 2012; 44:562–575.
- 262.** Kumarswamy R, Lyon AR, Volkmann I, et al. SERCA2a gene therapy restores microRNA-1 expression in heart failure via an Akt/FoxO3A-dependent pathway. *Eur Heart J.* 2012; 33:1067–1075. [PubMed: 22362515] Omran et al. Page 13.
- 263.** Ikeda S, He A, Kong SW, et al. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and Mef2a genes. *Mol Cell Biol.* 2009; 29:2193–2204.
- 264.** Care A, Catalucci D, Felicetti F, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 2007; 13:613–618.

- 265.** Feldman AM, McNamara D. Myocarditis. *N Engl J Med.* 2000; 343:1388–1398.
- 266.** Xu HF, Ding YJ, Shen YW, et al. MicroRNA-1 represses Cx43 expression in viral myocarditis. *Mol Cell Biochem.* 2012; 362:141–148.
- 267.** Rao PK, Toyama Y, Chiang HR, et al. Loss of cardiac microRNA-mediated regulation leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circ Res.* 2009; 105:585–594.
- 268.** van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:18255–18260.
- 269.** Saji T, Matsuura H, Hasegawa K, et al. Comparison of the clinical presentation, treatment, and outcome of fulminant and acute myocarditis in children. *Circ J.* 2012; 76:1222–1228.
- 270.** Ye X, Liu Z, Hemida MG, Yang D. Targeted delivery of mutant tolerant anti-coxsackievirus artificial microRNAs using folate conjugated bacteriophage Phi29 pRNA. *PLoS One.* 2011;6:e21215.
- 271.** Sharma S, Liu J, Wei J, Yuan H, Zhang T, Bishopric NH. Repression of miR-142 by p300 and mapk is required for survival signalling via gp130 during adaptive hypertrophy. *EMBO Mol Med.* 2012; 4:617–632.
- 272.** Satoh M, Minami Y, Takahashi Y, Tabuchi T, Nakamura M. Expression of microRNA-208 is associated with adverse clinical outcomes in human dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2010;16:404–410.
- 273.** Palacin M, Reguero JR, Martin M, et al. Profile of microRNAs differentially produced in hearts from patients with hypertrophic cardiomyopathy and sarcomeric mutations. *Clin Chem.* 2011;57:1614–1616.
- 274.** Kelly M, Bagnall RD, Peverill RE, et al. A polymorphic miR-155 binding site in AGTR1 is associated with cardiac hypertrophy in Friedreich ataxia. *J Mol Cell Cardiol.* 2011; 51:848–854.
- 275.** Girmatsion Z, Biliczki P, Bonauer A, et al. Changes in microRNA-1 expression and IK1 upregulation in human atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2009; 6:1802–1809.
- 276.** Lu Y, Zhang Y, Wang N, et al. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation.* 2010; 122:2378–2387.
- 277.** Xiao J, Liang D, Zhang Y, et al. MicroRNA expression signature in atrial fibrillation with mitral stenosis. *Physiol Genomics.* 2011; 43:655–664.

- 278.** Serwer G. Ventricular arrhythmia in children: diagnosis and management. *Curr Treat Options Cardiovasc Med.* 2008; 10:442–4427.Omran et al. Page 14.
- 279.** Amin AS, Giudicessi JR, Tijssen AJ, et al. Variants in the 3' untranslated region of the KCNQ1-encoded Kv7. 1 potassium channel modify disease severity in patients with type 1 long QT syndrome in an allele-specific manner. *Eur Heart J.* 2012; 33:714–723.
- 280.** Jongsma HJ, Wilders R. Gap junctions in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2000; 86:1193–1197.
- 281.** Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nat Med.* 2007; 13:486–491.
- 282.** Terentyev D, Belevych AE, Terentyeva R, et al. miR-1 overexpression enhances Ca(2+) release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMKII-dependent hyperphosphorylation of RyR2. *Circ Res.* 2009; 104:514–521.
- 283.** Marelli AJ, Mackie AS, Ionescu-Iltu R, Rahme E, Pilote L. Congenital heart disease in the general population: changing prevalence and age distribution. *Circulation.* 2007; 115:163–172.
- 284.** Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics–2009 update: heart disease and stroke statistics–2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2009; 119:480–486.
- 285.** Bibbins-Domingo K, Coxson P, Pletcher MJ, Lightwood J, Goldman L. Adolescent overweight and future adult coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2007; 357:2371–2379.
- 286.** The Role of Micro-RNAs in Rheumatic Diseases: An Update
<http://dx.doi.org/10.5772/54273>
- 287.** Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation.* 1998; 98:149–156.
- 288.** Ren XP, Wu J, Wang X, Sartor MA, Qian J, Jones K, Nicolaou P, Pritchard TJ, Fan GC. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20. *Circulation.* 2009; 119:2357–2366.

- 289.** Dong S, Cheng Y, Yang J, Li J, Liu X, Wang X, Wang D, Krall TJ, Delphin ES, Zhang C. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction. *J Biol Chem.* 2009.
- 290.** Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, Xiao J, Shan H, Wang Z, Yang B. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *J Cell Sci.* 2007; 120:3045–3052.
- 291.** Shan ZX, Lin QX, Fu YH, Deng CY, Zhou ZL, Zhu JN, Liu XY, Zhang YY, Li Y, Lin SG, et al. Upregulated expression of miR-1/miR-206 in a rat model of myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 381:597–601.
- 292.** Rowland RT, Meng X, Cleveland JC, Meldrum DR, Harken AH, Brown JM. Cardioadaptation induced by cyclic ischemic preconditioning is mediated by translational regulation of de novo protein synthesis. *J Surg Res.* 1997; 71:155–160.
- 293.** Rane S, He M, Sayed D, Vashistha H, Malhotra A, Sadoshima J, Vatner DE, Vatner SF, Abdellatif M. Downregulation of miR-199a derepresses hypoxia-inducible factor-1 α and Sirtuin 1 and recapitulates hypoxia preconditioning in cardiac myocytes. *Circ Res.* 2009; 104:879–886.
- 294.** Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007; 9:654–659.
- 295.** Hunter MP, Ismail N, Zhang X, Aguda BD, Lee EJ, Yu L, Xiao T, Schafer J, Lee ML, Schmittgen TD, et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS One.* 2008; 3:e3694.
- 296.** Rabinowits G, Gercel-Taylor C, Day JM, Taylor DD, Kloecker GH. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer.* 2009; 10:42–46.
- 297.** Camussi G, Deregibus MC, Bruno S, Cantaluppi V, Biancone L. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney Int.* 2010; 78:838–848.
- 298.** Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem.* 2009; 55:1944–1949.
- 299.** D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, Straino S, Di Carlo A, Brambilla PG, Rubino M, Carena MC, Spazzafumo L, De Simone M, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2010; 31:2765–2773.

- 300.** Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, Li K, Yu B, Li Z, Wang R, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 391:73–77.
- 301.** Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, Qin YW, Jing Q. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J.* 2010; 31:659–666.
- 302.** Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res.* 2010;107:677– 684.
- 303.** Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:10513–10518.
- 304.** Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS ONE* 2008;3:e3148.
- 305.** Steer CJ, Subramanian S. Circulating MicroRNAs as Biomarkers: A New Frontier in Diagnostics. *Liver Transpl.* 2012;18:265-269.
- 306.** Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol Rev* 2011;91:827-887.
- 307.** Cortez MA, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 2009;9:703-711.
- 308.** Baxter D, McInnes IB, Kurowska-Stolarska M. Novel regulatory mechanisms in inflammatory arthritis: a role for microRNA. *Immunol Cell Biol* 2012;90(3):288-92.
- 309.** Wittmann J, Jack HM. microRNAs in rheumatoid arthritis: midget RNAs with a giant impact. *Ann Rheum Dis* 2011;70 Suppl 1:i92-6.
- 310.** Sonkoly E, Pivarcsi A. Advances in microRNAs: implications for immunity and inflammatory diseases. *J Cell Mol Med* 2009;13(1):24-38.
- 311.** Lu LF, Liston A. MicroRNA in the immune system, microRNA as an immune system. *Immunology* 2009;127(3):291-8.
- 312.** The role of Micro-RNAs in Rheumatic Diseases:An Update.<http://dx.doi.org/10.2772/54273>.
- 313.** Abdullah M, Bigras JL, McCrindle BW. Dilated cardiomyopathy as a first sign of nutritional vitamin D deficiency rickets in infancy. *Can J Cardiol.* 1999;15:699-701.

- 314.** Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med.* 1991;325:293-302.
- 315.** Masaki S, Ohtsuka R, Abe Y, Muta K, Umemura T. Expression patterns of microRNAs 155 and 451 during normal human erythropoiesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007;364:509–514.
- 316.** Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2004;39:167-169.
- 317.** Martin MM, Lee EJ, Buckenberger JA, Schmittgen TD, Elton TS. MicroRNA-155 regulates human angiotensin II type 1 receptor expression in fibroblasts. *J Biol Chem.* 2006;281:18277-18284.
- 318.** Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, Bonmassar E. miR-155 gene: A typical multifunctional microRNA. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1792:497-505.
- 319.** Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res.* 2010;107:677– 684.
- 320.** Zidar N, Boštjančič E, Glavač D, Stajer D. MicroRNAs, innate immunity and ventricular rupture in human myocardial infarction. *Dis Markers.* 2011;31:259-265.
- 321.** Satoh M, Minami Y, Takahashi Y, Tabuchi T, Nakamura M. Cellular MicroRNA, let-7i, Is a Novel Biomarker for Clinical Outcome in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Cardiac Fail.* 2011;17:923-929.
- 322.** De Rosa S, Fichtlscherer S, Lehmann R, Assmus B, Dimmeler S, Zeiher AM (2011) Transcoronary concentration gradients of circulating microRNAs. *Circulation.* doi:10.1161/CIRCULATION.AHA.111.037572.
- 323.** Fu JD, Rushing SN, Lieu DK, et al. Distinct roles of microRNA-1 and -499 in ventricular specification and functional maturation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. *PLoS One.* 2011; 6:e27417.
- 324.** Hosoda T, Zheng H, Cabralda-Silva M, et al. Human cardiac stem cell differentiation is regulated by a mircrine mechanism. *Circulation.* 2011; 123:1287–1296.
- 325.** Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature.* 2005; 436:214–220.

- 326.** Kwon C, Han Z, Olson EN, Srivastava D. MicroRNA1 influences cardiac differentiation in *Drosophila* and regulates Notch signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102:18986–18991.
- 327.** Zhao Y, Ransom JF, Li A, Vedantham V, von Drehle M, Muth AN, Tsuchihashi T, McManus MT, Schwartz RJ, Srivastava D. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell*. 2007; 129:303–317.
- 328.** Niu Z, Li A, Zhang SX, Schwartz RJ. Serum response factor micromanaging cardiogenesis. *Curr Opin Cell Biol*. 2007; 19:618–627.
- 329.** Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, Xiao J, Shan H, Wang Z, Yang B. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *J Cell Sci*. 2007; 120:3045–3052.
- 330.** Shan ZX, Lin QX, Fu YH, Deng CY, Zhou ZL, Zhu JN, Liu XY, Zhang YY, Li Y, Lin SG, et al. Upregulated expression of miR-1/miR-206 in a rat model of myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 381:597–601.
- 331.** Marquart TJ, Allen RM, Ory DS, Baldan A. miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107:12228–12232.
- 332.** Najafi-Shoushtari SH, Kristo F, Li Y, Shioda T, Cohen DE, Gerszten RE, Naar AM. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. *Science*. 2010; 328:1566–1569.
- 333.** Kuwabara Y, Ono K, Horie T, Nishi H, Nagao K, Kinoshita M, Watanabe S, Baba O, Kojima Y, Shizuta S, Imai M, Tamura T, Kita T, Kimura T. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate the existence of myocardial damage. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4:446–454.
- 334.** Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, Wagner DR, Staessen JA, Heymans S, Schroen B. Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3:499–506.
- 335.** Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, Wagner DR, Staessen JA, Heymans S, Schroen B (2010) Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet* 3:499–506.

- 336.** Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, Leenders JJ, Lentink V, van der Made I, Herias V, van Leeuwen RE, Schellings MW, Barenbrug P, et al. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ Res.* 2009; 104:170–178. 176p. following 178.
- 337.** van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, Richardson JA, Olson EN. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:18255–18260.
- 338.** Wong SS, Ritner C, Ramachandran S, et al. miR-125b promotes early germ layer specification through lin28/let-7d and preferential differentiation of mesoderm in human embryonic stem cells. *PLoS One.* 2012; 7:e36121.
- 339.** Voellenkle C, van Rooij J, Cappuzzello C, Greco S, Arcelli D, Di Vito L, Melillo G, Rigolini R, Costa E, Crea F et al (2010) Micro-RNA signatures in peripheral blood mononuclear cells of chronic heart failure patients.
- 340.** Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Non-cardiomyocyte microRNAs in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2012; 93:573–582.
- 341.** Lai NS et al. Aberrant Expression of microRNAs in T cells from Patients with Ankylosing Spondylitis Contributed to the Immunopathogenesis¹ 2013 British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology.
- 342.** Wu F, Zikusoka M, Trindade A, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptid-2 alpha. *Gastroenterology.* 2008;135:1624-1635.
- 343.** Mattes J, Collison A, Plank M, Phipps S, Foster PS. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18704–9.
- 344.** Pan W, Zhu S, Yuan M, et al. MicroRNA-21 and microRNA-148a contribute to DNA hypomethylation in lupus CD41T cells by directly and indirectly targeting DNA methyltransferase 1. *J Immunol* 2010;184:6773–81.
- 345.** Rouas R, Fayyad-Kazan H, El Zein N, et al. Human natural Treg microRNA signature: role of microRNA-31 and microRNA-21 in FOXP3 expression. *Eur J Immunol* 2009;39:1608–18.
- 346.** Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res.* 2007; 101:59–68.

- 347.** Dews M, Homayouni A, Yu D, Murphy D, Seignani C, Wentzel E, Furth EE, Lee WM, Enders GH, Mendell JT, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet.* 2006; 38:1060–1065.
- 348.** Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, Richardson JA, Bassel-Duby R, Olson EN. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell.* 2008; 15:261–271.
- 349.** Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, Ivey KN, Bruneau BG, Stainier DY, Srivastava D. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell.* 2008; 15:272–284.
- 350.** Chen Y, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miR-130a) that downregulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5. *Blood.* 2008; 111:1217–1226.
- 351.** Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, Melchionna R, Romani S, Pompilio G, Capogrossi MC, Martelli F. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem.* 2008; 283:15878–15883.
- 352.** Lee DY, Deng Z, Wang CH, Yang BB. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:20350–20355.
- 353.** Hua Z, Lv Q, Ye W, Wong CK, Cai G, Gu D, Ji Y, Zhao C, Wang J, Yang BB, et al. MiRNAdirected regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia. *PLoS One.* 2006;1:e116.
- 354.** Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102:13944–13949.
- 355.** Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M, Koyanagi M, Fischer A, Burchfield J, Fox H, Doebele C, Ohtani K, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science.* 2009; 324:1710–1713.
- 356.** Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, Sessa WC. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res.* 2007; 100:1164–1173.
- 357.** Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, Mercatanti A, Hammond S, Rainaldi G. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood.* 2006;108:3068–3071.

- 358.** Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, et al. P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010;107:6334–6339.
- 359.** Dews M, Homayouni A, Yu D, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat. Genet* 2006;38:1060-1065.
- 360.** Anand S, Majeti BK, Acevedo LM, et al. MicroRNA-132-mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis. *Nat. Med* 2010;16:909–914.
- 361.** Wurdinger T, Tannous BA, Saydam O, et al. miR-296 regulates growth factor receptor overexpression in angiogenic endothelial cells. *Cancer Cell* 2008;14:382–393.
- 362.** Lee DY, Deng Z, Wang CH, Yang BB. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2007;104:20350–20355.
- 363.** Cha ST, Chen PS, Johansson G, et al. MicroRNA-519c suppresses hypoxia-inducible factor-1 α expression and tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2010;70:2675–2685.
- 364.** Liu LZ, Li C, Chen Q, et al. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression. *PLoS ONE* 2011;6:e19139.
- 365.** Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res.* 2007; 101:59–68.
- 366.** Dews M, Homayouni A, Yu D, Murphy D, Sevignani C, Wentzel E, Furth EE, Lee WM, Enders GH, Mendell JT, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet.* 2006; 38:1060–1065.
- 367.** Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, Richardson JA, Bassel-Duby R, Olson EN. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell.* 2008; 15:261–271.
- 368.** Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, Ivey KN, Bruneau BG, Stainier DY, Srivastava D. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell.* 2008; 15:272–284.
- 369.** Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, Melchionna R, Romani S, Pompilio G, Capogrossi MC, Martelli F. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem.* 2008; 283:15878–15883.

- 370.** Lee DY, Deng Z, Wang CH, Yang BB. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:20350–20355.
- 371.** Hua Z, Lv Q, Ye W, Wong CK, Cai G, Gu D, Ji Y, Zhao C, Wang J, Yang BB, et al. MiRNA-directed regulation of VEGF and other angiogenic factors under hypoxia. *PLoS One.* 2006;1:e116.
- 372.** Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102:13944–13949.
- 373.** Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M, Koyanagi M, Fischer A, Burchfield J, Fox H, Doebele C, Ohtani K, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science.* 2009; 324:1710–1713.
- 374.** Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober JS, Sessa WC. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial cells. *Circ Res.* 2007; 100:1164–1173.
- 375.** Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, Mercatanti A, Hammond S, Rainaldi G. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood.* 2006; 108:3068–3071.
- 376.** J.E. Dahlberg and E. Lund, Micromanagement during the innate immune response, *Sci STKE* 387 (2007), pe25.
- 377.** N. Zidar, J. Jeruc, J. Balažic and D. Štajer, Neutrophils in human myocardial infarction with rupture of the free wall, *Cardiovascular Pathol* 14 (2005), 247–250.
- 378.** C. Vasilescu, S. Rossi, M. Shimizu, S. Tudor, A. Veronese, M. Ferracin, M.S. Nicoloso, E. Barbarotto, M. Popa, O. Stanciulea, M.H. Fernandez, D. Tulbure, C.E. Bueso-Ramos, M. Negrini and G.A. Calin, MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis, *PLoS One* 4 (2009), e7405.
- 379.** Thum T, Galuppo P, Wolf C, et al. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation.* 2007; 116:258–267.410.
- 380.** Goddeeris MM, Rho S, Petiet A, et al. Intracardiac septation requires hedgehog-dependent cellular contributions from outside the heart. *Development.* 2008; 135:1887–1895.
- 381.** Xu J, Hu Z, Xu Z, et al. Functional variant in microRNA-196a2 contributes to the susceptibility of congenital heart disease in a Chinese population. *Hum Mutat.* 2009; 30:1231–1236.

- 382.** Zhou B, Rao L, Peng Y, et al. Common genetic polymorphisms in pre-microRNAs were associated with increased risk of dilated cardiomyopathy. *Clin Chim Acta.* 2010; 411:1287–1290.
- 383.** Topkara VK, Mann DL. Role of microRNAs in cardiac remodeling and heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2011; 25:171–82. [PubMed: 21431305].
- 384.** Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, et al. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010;142:914–29.
- 385.** Pauley KM, et al. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R101.
- 386.** Hsieh CH, Rau CS, Jeng SF, et al. Identification of the potential target genes of microRNA146a induced by PMA treatment in human microvascularendothelial cells. *Exp Cell Res* 2010;316:1119-26.
- 387.** Doward LC, Spoorenberg A, Cook SA, Whalley D, Helliwell PS, Kay LJ, et al. Development of the ASQoL: a quality of life instrument specific to ankylosing spondylitis. *AnnRheumDis*2003;62(1):20-6.
- 388.** Yu C, Chen W-P, Wang X-H. MicroRNA in Osteoarthritis, *The Journal of International Medical Research*, 2011; 39: 1 – 9.
- 389.** Tai-You Ha The Role of MicroRNAs in Regulatory T Cells and in the Immune Response *IMMUNE NETWORK* <http://www.ksimm.or.kr> Volume 11 Number 1 February 2011.
- 390.** Pulikkan JA, Dengler V, Peramangalam PS, et al. Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;115:1768–78.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

miRNA	:	MikroRNA
ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
mRNA	:	Mesajcı RNA
ARA	:	Akut romatizmal ateş
GABHS	:	Grup A beta-hemolitik streptokoklar
RKH	:	Romatizmal Kalp Hastalığı
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ASO	:	Anti- streptolizin O
EKO	:	Ekokardiyografi
MD	:	Mitral darlığı
MY	:	Mitral yetmezlik
AY	:	Aort yetmezliği
AS	:	Aort stenozu
ESH	:	Eritrosit sedimentasyon hızı
CRP	:	C-reaktif protein
pri-miRNA	:	Primer miRNA
pre-miRNA	:	Prekürsor miRNA
RISC	:	RNA induced silencing complex
ORF	:	Open Reading Frame
Mİ	:	Miyokard infarktüsü
ROC	:	Receiver operational characteristics
KAH	:	Koroner arter hastalığı
ECM	:	Ekstraselüler matriks
CTGF	:	Bağ doku büyüme faktörü
VCAM-1	:	Vasküler hücre adezyon moldekülü 1
VSMC	:	Vasküler düz kas büyümesi
AT1R	:	Anjiyotensin II tip 1 reseptör
AF	:	Atriyal fibrilasyon
VEGF	:	Vasküler epidermal büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa No
Şekil 1 ARA patogenezi	12
Şekil 2 AGBHS'un hücre duvarının şematik görünümü ve çapraz reaksiyon veren yapılar	15
Şekil 3 MikroRNA'nın rol aldığı hücresel işlevler	38
Şekil 4 MiRNA oluşumu	40
Şekil 5 MiRNA oluşumu ve fonksiyonu	41
Şekil 6 MiRNA biyogenezi	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 1	Streptokokların ürettiği enzim,toksin ve hemolizinler	14
Tablo 2	Modifiye Jones Kriterleri	18
Tablo 3	ARA ayırıcı tanısındaki hastalıklar	29
Tablo 4	AGBHS taşıyıcılığı tedavisi	33
Tablo 5	ARA' lı Hastalarda Aktivite Düzenlenmesi	35
Tablo 6	Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri	70
Tablo 7	Hastalarda kardite eşlik eden majör bulgular	71
Tablo 8	Hastaların kapak tutulumu	71
Tablo 9	Hasta ve kontrol grubunun EKO parametreleri	72
Tablo 10	Hasta ve kontrol grubunun akrabalık durumu	73
Tablo 11	Hasta ve kontrol grubunun anne eğitim durumu	73
Tablo 12	Hasta ve kontrol grubunda babanın eğitim durumu	74
Tablo 13	Hasta ve kontrol grubunun aile gelir durumu	74
Tablo 14	Hasta ve kontrol grubunun yaşadığı bölgeler	75
Tablo 15	Hasta ve kontrol grubunun miRNA ekspresyon profili	77