

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**KALP YETERSİZLİĞİ HASTALARI VE SAĞLIKLI  
GÖNÜLLÜLERDE KANDAKİ MİKRO RİBONÜKLEİK  
ASİT'LERİN (miRNA) DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI  
VE miRNA' ların KALP YETERSİZLİĞİ TANI, TEDAVİ VE  
PROGNOZ TAHMİNİNDE YERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

Dr. Ahmet SAYIN

**DANIŞMAN**

Prof. Dr. Mehdi ZOGHİ

İZMİR

2013

## TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitimim süresince mesleki gelişimimde emeği olan, başta AD. Başkanımız Sayın Prof. Dr. Cemil GÜRGÜN Hocam olmak üzere değerli hocalarıma,

gerek tez yazım aşamasında gerekse teorik ve pratik hekimlik hayatımda birikiminden çok faydalandığım Sayın Prof. Dr. Mehdi ZOGHİ' ye,

geçirdiğimiz eğitim süresi boyunca birlikte çalıştığımız, desteklerini ve dostluklarını her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarıma,

tezime hasta alımı sırasında özverilerini esirgemeyen hemşire hanımlar başta tüm personelimize,

tezimin her aşamasında fedakarca yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. M. Özgür ÇOĞULU, Yard. Doç. Dr. Emin KARACA ve Dr. İ. Merve TEKİN' e,

tez istatistiki analizinde beni geri çevirmeyen ve yardımını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Cumhur GÜNDÜZ' e,

Ve en can alıcı noktada her zaman yanımda olan, desteği ile bana güç veren, hayat arkadaşım, sevdiğim, eşim **Dr. Zeliha ERSOY SAYIN'** a sonsuz teşekkürlerimle....

Dr. Ahmet SAYIN

İzmir- 2013

# İÇİNDEKİLER

<b>Giriş ve Genel Bilgiler .....</b>	<b>1</b>
<b>Amaçlar ve Hipotez .....</b>	<b>24</b>
<b>Gereç ve Yöntem .....</b>	<b>25</b>
<b>Bulgular .....</b>	<b>34</b>
<b>Tartışma .....</b>	<b>40</b>
<b>Özet (Türkçe ve İngilizce).....</b>	<b>46</b>
<b>Kaynaklar.....</b>	<b>48</b>

## KISALTMALAR

<b>KY</b>	:	Kalp Yetersizliği
<b>EF</b>	:	Ejeksiyon fraksiyonu
<b>DEF-KY</b>	:	Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği
<b>KEF-KY</b>	:	Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği
<b>ME</b>	:	Miyokart enfarktüsü
<b>SV</b>	:	Sol ventrikül
<b>SVSD</b>	:	Sol ventrikül sistolik disfonksiyonu
<b>BB</b>	:	Beta bloker
<b>PE</b>	:	Pulmoner emboli
<b>NYHA</b>	:	New York Kalp Cemiyeti
<b>KAH</b>	:	Koroner arter hastalığı
<b>YŞ</b>	:	Yeniden şekillenme
<b>AH</b>	:	Atım hacmi
<b>FSM</b>	:	Frank-Starling mekanizması
<b>SSS</b>	:	Sempatik sinir sistemi
<b>RAAS</b>	:	Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
<b>ADE</b>	:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
<b>AT1</b>	:	Anjiyotensin tip 1 reseptörü
<b>AT2</b>	:	Anjiyotensin tip 2 reseptörü
<b>AVP</b>	:	Arjinin vazopressin
<b>ACTH</b>	:	Adrenokortikotropik hormon
<b>NP</b>	:	Natriüretik peptid
<b>ANP</b>	:	Atriyal natriüretik peptid
<b>BNP</b>	:	Beyin natriüretik peptid
<b>ET-1</b>	:	Endotelin 1
<b>ET-2</b>	:	Endotelin 2
<b>ET-3</b>	:	Endotelin 3
<b>ÜT-2</b>	:	Ürotensin 2
<b>NO</b>	:	Nitrik oksit
<b>NPY</b>	:	Nöropeptit Y
<b>TNF-alfa</b>	:	Tümör nekroz faktör alfa

<b>İL</b>	:	İnterlökün
<b>ASD</b>	:	Atriyal septal defekt
<b>VSD</b>	:	Ventriküler septal defekt
<b>SR</b>	:	Sarkoplazmik retikulum
<b>TTEKO</b>	:	Transtorasik ekokardiyografi
<b>TÖE</b>	:	Transözefajiyal ekokardiyografi
<b>KMRG</b>	:	Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme
<b>KBT</b>	:	Kardiyak bilgisayarlı tomografi
<b>KAG</b>	:	Koroner anjiyografi
<b>KV</b>	:	Kardiyovasküler
<b>IKD</b>	:	İmplant edilebilir kardiyak defibrilatör
<b>ADEi</b>	:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
<b>ARB</b>	:	Anjiyotensin reseptör blokerleri
<b>KRT</b>	:	Kardiyak resenkronizasyon tedavisi
<b>NT-ProBNP</b>	:	N terminal pro beyin natriüretik peptit
<b>ADM</b>	:	Adrenomedüllin
<b>GDF-15</b>	:	Büyüme farklılaşma faktörü-15 (growth differentiation factor)
<b>PTX3</b>	:	Pentraksin-3
<b>miRNA</b>	:	Mikro ribonükleik asit
<b>mRNA</b>	:	Mesajcı ribonükleik asit
<b>dsRNA</b>	:	Çift zincirli ribonükleik asit
<b>dsRBD</b>	:	Çift zincirli RNA bağlayıcı protein
<b>Exp5</b>	:	Ekspotin 5
<b>RISC</b>	:	RNA induced silencing kompleks
<b>DM</b>	:	Diabetes mellitus
<b>EÜTF</b>	:	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

# 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

## 1.1. KALP YETMEZLİĞİ

### 1.1.1. TANIM VE TERMİNOLOJİ

Kalp yetersizliği (KY), normal dolum basınçlarına rağmen, kalbin dokuların metabolik gereksinimlerini karşılayacak şekilde oksijen sunamamasına sebep olan yapısal veya işlevsel bozukluğudur (1). KY tanısının temelinde altta yatan kardiyak bozukluğun gösterilmesi yatar ve sebep genellikle sistolik ventrikül işlev bozukluğuna yol açan miyokart hastalığıdır. Bu arada diyastolik işlev bozukluğu, kalp kapak patolojileri, perikart hastalıkları, endokart hastalıkları, kalp ritim ve ileti anormallikleri de KY'ye neden olabilmektedir (birden fazlası bir arada görülebilir).

En sık sebep myokardiyal bozukluklar olduğu için, tanımlamanın temeli ejeksiyon fraksiyonu (EF) ölçümüne dayanmaktadır. EF; atım hacminin diyastol sonu hacme bölünmesi ile elde edilir. Sistolik işlev bozukluğu ciddiyeti arttıkça EF normale göre düşer ve genellikle diyastol sonu ve sistol sonu hacimleri artar. EF, prognostik olarak önemli olduğu gibi (EF düştükçe sağkalım azalır), çoğu klinik çalışmada hastaların EF'ye göre dahil edilmesinden dolayı da önemlidir. Nitekim, sistolik KY veya düşük EF'si olan hastalarla (DEF-KY) yapılan temel klinik çalışmalara genellikle EF  $\leq$  %35 olan hastalar dahil edilmiştir ve günümüzde etkinliği kanıtlanmış tedavilerin sadece bu grup hastalarda etkin olduğu gösterilmiştir (2). Diğer taraftan, yakın zamanda, EF  $>$  %40-45 olan ve başka kardiyak bozukluğu olmayan (kapak hastalığı ya da perikart hastalığı gibi) KY hastaları ile de çalışmalar yapılmıştır ve bu hastaların bazılarında EF tamamen normal değerlerde (genellikle  $>$  %50) olmamakla beraber, sistolik işlevlerde de büyük bir azalma görülmemektedir. Bu nedenle, bu hastaları tanımlamak için korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu KY terimi (KEF-KY) geliştirilmiştir fakat tanıda zorluklar mevcuttur ve tüm nedenler dışlandıktan sonra tanı konulur, diğer bir ifade ile dışlama tanısıdır (3,4) (bkz tablo-1).

Miyokart enfarktüsü (ME) yada herhangi bir hasar sebebi ile oluşan kalp kası hücresi ölümü en bilinen sebeptir. Miyosit ölümü ile birlikte o bölgede fibrozis ve kalan miyositlerde hipertrofi oluşurken, daha sonrasında etkilenen kalp boşluklarında dilatasyon meydana gelir (5-10).

KY tiplerini tanımlamak için kullanılan terimler değişkenlik göstermektedir. Tipik KY belirti ve bulgularını göstermeyen bir hasta, asemptomatik sol ventrikül sistolik disfonksiyonu (SVSD) (ya da altta yatan kardiyak anomali) ile, bir süredir KY olan hastalar sıklıkla 'kronik

KY' ile tanımlanırken, belirti ve bulguları tedavi ile en az bir aydır kontrol altında olan hastalar için ise 'kararlı (stabil) KY' terimi kullanılır. Eğer kronik kararlı KY kötüleşirse, hasta 'dekompanse' olarak tanımlanır. Bununla birlikte genel olarak geri dönüşlü sebeplere (kapak, perikard hastalıkları, geri dönüşümlü myokarditler gibi) bağlı olan fakat bazen de kronik KY' ye ilerleyebilen ani KY semptomları ile gelen hastalar da 'Akut KY' olarak adlandırılır (2).

**Tablo-1 : KY Tanısı (2)**

<b>DEF-KY tanısı için karşılanması gereken koşullar;</b>
1.Tipik KY belirtileri
2.Tipik KY bulguları
3.Düşük SVEF
<b>KEF-KY tanısı için karşılanması gereken koşullar;</b>
1.Tipik KY belirtileri
2.Tipik KY bulguları
3. Normal veya sadece hafifçe azalmış SVEF ve dilate olmayan SV
4.İlişkili yapısal kalp hastalığı (SV hipertrofisi/SA genişlemesi) ve/ veya diyastolik işlev bozukluğu

Kronik KY hastalarında dekompensasyona sebep olan faktörler; önerilere uyumsuzluk (tuz ve sıvı kısıtlaması, düzenli ilaç alımı), obezite, anemi, alkol alımı, non steroid anti inflamatuvar ilaçların sık kullanımı, negatif inotropik ilaçlar (verapamil, nifedipin, diltiazem, beta bloker = BB vs.), enfeksiyon, endokrinolojik anormallikler (diyabet, hipertroidi, hipotroidi vs.) böbrek hastalıkları, akciğer hastalıkları, atriyal fibrilasyon ve diğer aritmiler, yüksek sistolik ve diyastolik kan basınçları, pulmoner emboli (PE), miyokardiyal iskemi olarak sıralanabilir.

### **1.1.2. KY SINIFLANDIRILMASI**

KY semptomatik sınıflandırmasında klinik pratikte genel olarak New York Kalp Cemiyeti (NYHA)' nin tanımlamaları kullanılmaktadır. NYHA sınıflaması işlevselliğe dayanır ve neredeyse tüm randomize KY tedavi çalışmalarında hasta seçimi ve etkin tedavilerden fayda gören hastaları tanımlamak için kullanılır (2). (bkz tablo-2)

Amerikan Kalp cemiyeti klavuzlarının kullandığı sınıflandırmada risk faktörleri, yapısal

kalp hastalığı ve/veya semptomların varlığına göre kalp yetmezliğinin gelişim süreci ve progresyonu vurgulanmaktadır. (11) (bkz tablo-3)

**Tablo-2 : NYHA Sınıflandırması**

<b>Sınıf-I</b>	Fiziksel aktivite kısıtlanması yok. Rutin fiziksel aktiviteler beklenenin üzerinde nefes darlığı, halsizlik ya da çarpıntıya yol açmaz.
<b>Sınıf-II</b>	Fiziksel aktivitede hafif kısıtlanma var. Dinlenme sırasında rahattır, ancak olağan fiziksel aktivite beklenenin üzerinde nefes darlığı, halsizlik ya da çarpıntıya yol açar.
<b>Sınıf-III</b>	Fiziksel aktivitede belirgin kısıtlanma var. Dinlenme sırasında rahattır, ancak olağan düzeyin altında fiziksel aktivite nefes darlığı, halsizlik ya da çarpıntıya yol açar.
<b>Sınıf-IV</b>	Rahatsızlık duymadan herhangi bir fiziksel etkinlik sürdürülemez. Dinlenme sırasında belirtiler olabilir. Herhangi bir fiziksel aktivite yapılması durumunda rahatsızlık artar.

**Tablo-3: Amerikan Kalp Cemiyeti Sınıflandırması**

<b>Evre- A</b>	KY gelişimi açısından risk faktörleri olan fakat yapısal kalp hastalığı olmayan hastalar
<b>Evre- B</b>	Yapısal kalp hastalığı olan fakat KY semptomları olmayan hastalar
<b>Evre- C</b>	Altta yatan yapısal kalp hastalığına bağlı olarak KY semptomları başlayan hastalar
<b>Evre- D</b>	Kompleks tedavi yöntemleri gereken son dönem KY hastaları

### 1.1.3. EPİDEMİYOLOJİ

KY son yıllardaki tedavi seçenekleri ve etkinliğindeki belirgin artmaya rağmen giderek artan sıklığı ve yaygınlığı nedeniyle tüm dünyada önde gelen sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Gelişmiş ülkelerin verilerine bakıldığında, erişkin toplumun yaklaşık %1-2' sinde KY' ye rastlanmaktadır. 65 yaş üstündeki bireylerde bu rakam yaklaşık %3-5 iken, 70 yaş üstündeki bireylerde ise %10 ve üzeri değerlere yükselmektedir (özellikle 75 yaş üstünde %25). Çeşitli bölgelerden elde edilen verilere bakıldığında KY insidansı ise; yılda 0.0001-0.0005 arasında değişmektedir (12-17). Türkiye açısından bakıldığında en son veriler yapılan HAPPY (Türkiye' de KY Prevalansı ve Öngördürücüleri) çalışmasından gelmiştir ve ülkemizde erişkin KY ve asemptomatik SVD prevalansı genç nüfusun fazla olmasına rağmen batılı ülkelerden daha fazladır (18).

Tüm KY hastalarına bakıldığında oran olarak en sık DEF-KY görülmektedir ve aynı zamanda hem patofizyoloji hem de tedavi stratejileri açısından en iyi anlaşılan tiptir. En sık DEF-KY sebebi 'Koroner Arter Hastalığı (KAH)' dir (bkz tablo-4).



#### **1.1.4. PATOGENEZ**

KY patofizyolojisi halen tam olarak bilinmemektedir, en temel ve en iyi bilinen SVSD dur (23-26). Miyosit hasarını takiben oluşan SVSD' nin ilerlemesi sonrası KY tablosu günler, aylar, yıllar içinde gelişebilir yada ilerlemeden asemptomatik SVSD olarak devam edebilir. SVSD ilerlemesi miyosit hasarı ve kaybı sonrası canlı miyositlerde ve hücre dışı matrikste oluşan anormal adaptif değişikliklerin ardından başlayan sol (ve sağ) ventrikülün yeniden şekillenmesine (YŞ) (remodeling) bağlanmaktadır (25-28). YŞ' de pay sahibi faktörler; ME gibi aralıklı kardiyak olaylar, lokal cevaplar (otokrin yollar, moleküler adaptasyon ve apoptozis) ve sistemik cevaplar (nörohümorale yolakların aktivasyonu) olarak sıralanabilir ve bunların aktivasyonu sonrası SVSD gelişir. Bahsi geçen sistemik cevaplar sadece kalbi değil; akciğer, kan hücreleri, böbrekler, kaslar ve diğer bazı organların fonksiyonlarını da bozabilmektedir. Tüm bunlarla birlikte tekrar bir tanımlama getirilecek olursa tablo KY sendromuna dönüşmektedir (29-31).

#### **1.1.4.1. VENTRİKÜLER HASAR VE DÜŞÜK ATIM HACMİNE (AH) KALBİN CEVABI**

Kalp fonksiyonları bozulduğunda, AH' nin idamesi için devreye giren mekanizmalar; Frank-Starling mekanizması, nörohümorale sistem aktivasyonu ve yeniden şekillenmedir. (32)

#### **FRANK- STARLING MEKANİZMASI (FSM)**

Hasarlanan kalpte AH' nin idamesi için oluşan intrinsek mekanik değişikliklere dayanmaktadır. Genel olarak akut KY tablosunda rolü olan yasanın, az anlaşılması olmasına rağmen kronik KY' de de rolü vardır. Hasar ile birlikte kardiyak (intrinsek) ve nörohümorale (ekstresek nedenler) cevaplar ile oluşan adaptasyon mekanizmasıdır. KY tablosunda AH' deki ani düşme sonrası sol ventrikül diastol sonu volümü ve basınçlarında artış olur. FSM' ye göre de bu artış normal AH' nin idamesi için kasılma gücünün artışını sağlar. Kronik süreçte ise; sol ventrikül dolum basınçlarındaki artış ile birlikte, sodyum retansiyonu, su retansiyonu ve venokonstrüksiyon gelişmektedir. Sonrasında ise pulmoner arter ve kapiller basınçlarında artışlar oluşur ve kalp yetmezliği semptomları ortaya çıkmaya başlar. Diğer yandan su ve sodyum artışı ile arter duvarında da konstrüksiyon ve sertleşme meydana gelir ve bu durum da kalbin ard yükünü (after load) arttırarak kardiyak hasarı arttırır (33,34).

## **NÖROHORMONAL AKTİVASYON**

### **1. Sempatik Sinir Sistemi (SSS) Aktivasyonu**

KY' de AH' nin azalması sonrası en erken devreye giren sistemdir. SV, aortik arkus, karotis sinüsleri gibi yerlerde bulunan baroreseptörler, kalp debisi ve sistemik kan basıncı düşüklüğü ile aktivasyonu ile santral merkezlerin uyarılmasına neden olur. Sonuçta SSS aktive olması ile dolaşan katekolamin seviyesi artar ve parasempatik tonus azalır. Katekolaminlerden noradrenalin seviyeleri özellikle tedavi verilmediğinde normale göre 2-3 kat artmaktadır. Temelde noradrenalin ve diğer beta adrenerjik reseptör uyarıları, kalp hızı artışı ve kontraktilite artışı (pozitif inotropi) oluşturarak kalp debisini idameye çalışır fakat uzun dönemde miyokart oksijen kullanım ve ihtiyacının artması ve başka negatif etkilerden dolayı KY ilk safhalarında yararlı gibi görülen bu sistem, uzun dönemde potansiyel zararlı bir cevaba dönüşmektedir (35-38).

### **2. Renin Anjiyotensin Sistemi (RAAS) Aktivasyonu**

RAAS aktivasyonu, SSS aktivasyonundan daha sonraki evrelerde başlar ve sıvı elektrolit dengesi ve damar içi hacmin idamesinde merkezi role sahiptir. Sistem, KY' ye bağlı sebepler ile jukstaglomerüler cisimden renin salınımı ile aktive olur (39). Kaskat başladıktan sonra renin, anjotensinojenden anjiyotensin-I molekülünün ortaya çıkışını sağlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim(ADE) ise son molekülü anjiyotensin-II' ye çevirir (40).

Anjiyotensin II kilit role sahip moleküldür ve anjiyotensin tip 1 (AT1) ve tip 2 (AT2) reseptörleri üzerinden etkisini gösterir. AT1 reseptörleri aracılığı ile; vazokonstriksiyon, hücre büyümesi, aldosteron sekresyonu ve katekolamin salıverilmesi artışı gerçekleşir. Kalpte daha çok bulunan AT2 reseptörleri aracılığı ile ise; vazodilatasyon, hücre çoğalmasının inhibisyonu, natriürez ve bradikinin artışı gerçekleşir (40).

Uzun vadede bu kompensatuvar sistemin de negatif etkileri başlamaktadır. Bunlar; kalp başta olmak üzere çeşitli, organlarda fibrozis, katekolamin artışı ve aldosteron artışı olarak sıralanabilir (41).

### **3. Arjinin Vazopresin (AVP) Artışı**

AVP, hipofiz hormonudur. Plazma su dengesinin ve ozmolalitesinin düzenlenmesinde görevli ana moleküldür. Normalde plazma osmolitesi artınca AVP salınır ve proksimal

tübüllerde su geri emilimini arttırır (42-44). Vazopresin üç farklı G protein ilişkili reseptöre bağlanmaktadır. V1a, damar düz kas hücrelerinde bulunur, en yaygın olanıdır ve vazokonstrüksiyon, trombosit agregasyonu ve miyokart büyüme faktörü salınımını uyarır. V1b santral sinir sisteminde bulunur ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını arttırır. V2 reseptörleri ise su kanalları üzerinden etki ederek antidiüretik etkiyi sağlamaktadır (44,45). KY hastalarında AVP düzeyleri fazla saptanmaktadır ve bu hastalarda kötü prognoz göstergesi olan hiponatremiye katkıda bulunur (46).

#### **4. Natriüretik Peptidler (NP)**

NP' ler vücuttan böbrekler yoluyla su ve sodyum atılımını sağlar ve gerektiğinde arttırır. A tipi (atriyal) NP (ANP) ve B (beyin) tipi NP (BNP) olmak üzere iki tiptir. ANP atriyumlarda üretilir, BNP ventriküllerde üretilir. İki tip için de salınım için uyarıcı, atriyal ve ventriküler geriliminin artmasıdır. Ayrıca bazı nörohormonlar, yaş, cinsiyet, böbrek fonksiyonları gibi faktörler de salınımın düzenlenmesinde rol oynar. İki molekülün de farklı fizyolojik ve patofizyolojik özellikleri mevcuttur. ANP atriyum basıncındaki akut değişiklikler sonrası salınırken, BNP ise ventriküllerin kronik basınç yüklenmesine bağlı olarak salınır. NP reseptörlerinin uyarılması natriürez yanında ayrıca, fibrozis inhibisyonu, vazodilatasyon, RAAS inhibisyonu ve lusiotropide artış sağlar (47-50).

Bu nörohormonal sistem KY' de aktive olan en önemli sistemlerden sayılır. Bu hastalarda su ve tuz tutulumunun artışı ile birlikte su ve sodyum oranını fizyolojik koşullara getirmek için salınımı artırır. Fakat ileri evre KY hastalarında sebebi bilinmemekle birlikte düzeylerince çok artma olmasına rağmen böbrek üzerindeki etkileri azalmıştır. Muhtemel sebepler; böbrek kan akımının azalması, NP' lerin molekül yapısında değişiklik veya reseptör düzeyindeki azalması sayılabilir (36,52).

#### **4. Endotelinler ve Ürotensin-II**

Endotelin-1 (ET-1), endotelin-2 (ET-2) ve endotelin-3 (ET-3) olmak üzere üç tiptir ve güçlü vazokonstrüksiyon yaparlar ve aralarında en potent ve önemli olanı ET-1' dir. Kardiyovasküler etkiler ET-1 üzerinden olur (53,54). Kalpte bulunan iki farklı ET reseptörü vardır; A tipi vazokonstrüksiyon, proliferasyon, hipertrofi, fibrozis ile ilişkilidir, B tipi ise ET-1 klirensini sağlarken, prostasiklin ve nitrik oksit (NO) salınımına aracılık eder. ET-1 düzeyi KY hastalarında normale göre fazladır ve prognoz ile korele bir ilişkisi bulunmaktadır (55).

## **5. Nöropeptit Y (NPY)**

Vazokonstrüktör özelliği olan bir peptittir ve sempatik sinir uçlarından noradrenalin ile birlikte salınır. KY' de rolü net olmasa da orta ve ileri evredeki hastalarda normale göre artış göstermektedir (56).

## **6. Nitrik Oksit (NO)**

NO saptanan üç izoformu ile vasküler hemostazda santral rolü olan bir moleküldür. KY' de seviyeleri atılmıştır. Normal fizyolojide endotelden çıkan NO, periferik damarlarda dilatasyonu sağlarken KY hastalarında endotel bağımlı NO kaynaklı vazodilatasyon yanıtı azalmıştır (57,58).

## **7. Oksidatif Stres ve Ürik asit**

KY' de serbest oksijen radikallerinin negatif etkileri olduğu bilinmektedir. Bu ürünler miyokardiyal kasılmanın baskılanması, NO inaktivasyonu, ve hücre ölümünden (apoptozis) sorumlu tutulmaktadır (59). Serbest radikal oluşumuna sebep olan enzimler arasında lökosit kaynaklı myeloperoksidaz, NADPH oksidaz ve ksantin oksidaz enzimleri sayılabilir ve bunlar KY hastalarında normale göre fazladır (60,61).

KY' de artan ve pürin yıkımında görevli olan enzim ksantin oksidazın etkisi ile oluşan son ürün, ürik asit de KY hastalarında yüksektir ve oksidatif metabolizmada bozulma olduğunu gösterir. Kötü sonlanım açısından da öngördürücüdür (62).

## **8. Enflamatuvar Yanıt**

KY' de enflamasyon yanıtındaki artışın KY klinik kötüleşmesinde etkisi gösterilmiştir (63). En çok bilinenleri; TNF-alfa, interlökin-1 ve interlökin-6' dan oluşur ve bunların KY ilerlemesinde rolü olduğuna inanılır.

TNF-alfa, KY hastalarında yüksek bulunmuştur. TNF-alfa reseptörleri üzerinden etkilidir. Yüksek olmasına rağmen KY' de kökeni ve aktivasyon sebebi bilinmemektedir. Fakat mononükleer hücreler, hipoksik periferik dokular ve/veya miyokarttan salıverildiği olasıdır (64,65).

İnterlökin-6 da KY hastalarında normale göre belirgin yüksektir ve kötü prognozla ilişkilidir (66).

## **YENİDEN ŞEKİLLENME (YŞ)**

Remodeling veya yeniden şekillenme bahsedilen patolojik mekanizmalar sonrasında miyositler ve miyosit dışı elemanların yapısında ve hacminde değişiklikler ile sol ventrikül yapısı ve geometrisindeki değişimler sonucu gelişen bir durumdur (25,33,67,68). YŞ ile ventrikülün kontraktıl fonksiyonlarının idame ettirildiği kompensatuvar faz tanımlanmıştır ve bir müddet böyle devam edebilir. Fakat YŞ' nin boyutu, miktarı veya formu yetersiz kalmaya başladığında KY tablosu daha da kötüleşir. Yani hipertrofiye olmuş kısımlar mekanik stresi kompanse etmek için yetersiz olduğundan kısır bir döngü ortaya çıkar. Daha sonra ise tükenme fazına geçiş olur. Bu dönemde miyofibriler lizis, sarkoplazmik retikulum (SR) yapısında bozulmalar, tübül sisteminin miktarında azalma ve fibröz doku birikimi gözlenir ki; bu değişikliklerin bir araya gelmesi durumu daha da kötüleştirir. Sonuçta son dönem KY' ne geçiş gerçekleşmiş olur (36,69).

Genel olarak sol ventrikül yükünü arttıran duruma (volüm veya basınç) göre cevap, yani YŞ şekli farklılık gösterir. Aşırı basınç yüküne karşı cevap, sol ventrikül kavitesinin fazla genişlemediği, miyositlerin enine hipertrofiye olduğu ve az da olsa hiperplazi saptanan 'konsantrik (içe doğru) hipertrofi' şeklinde olur. Aşırı hacim yükünde ise, sol ventrikül kavitesinin belirgin genişleyebildiği ve miyositlerin sarkomer yapılarının seri replikasyonu ile boyunun uzadığı 'egzantrik (dışa doğru) hipertrofi' şeklinde olur (70).

**Eksitasyon kontraksiyon uyumu** açısından bakıldığında, aksiyon potansiyelinde uzama, kasılma gücünde ve gevşeme evresinde bozulmalar saptanmıştır (71).

**Sarkoplazmik retikulum (SR)** fonksiyonlarında ve proteinlerinin yapısındaki değişiklikler de göze çarpmaktadır. Kalsiyumun elektriksel ve mekanik aksiyon potansiyeli sırasındaki düzeylerinin düzenlenmesinde rol alan moleküllerin disfonksiyonu sonucu SR' den sürekli  $Ca^{+2}$  kaybı olur. Kayıpla birlikte sistol-diyastol periyodu için sürekli gereken iyon miktarı azalır (36,72).

**Kalbin kontraktıl protinlerinde** de YŞ sürecinde bir dizi değişiklikler olur. KY' de alfa miyozin ağır zincir gen ekspresyonunda azalma ve beta-miyozin ağır zincir (fetal hayattaki miyozin ağır zinciri) gen ekspresyonunda artış meydana gelir. Alfa miyozin ağır zincirinin dilate KMP' li hastalarda azaldığı ve patofizyolojiye katkısı olduğu bilinmektedir (36,73).

**Tablo-4: KY Etiyolojisi**

<p><b>Myokardiyal hastalıklar</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Koroner arter hastalığı</b> -iskemik KMP</li><li>• <b>Hipertansiyon</b></li><li>• <b>İmmun/inflamatuar;</b> - viral myokardit - chaagas hastalığı</li><li>• <b>Metabolik/infiltratif</b> - tiamin eksikliği - hemokromatozis - amiloidoz - sarkoidoz</li><li>• <b>Endokrin</b> - tirotsikoz</li><li>• <b>Toksik</b> - alkol - sitotoksikite - negative inotrop ilaç( Kalsiyum KB)</li><li>• <b>İdiyopatik</b> - dilate KMP - hipertrofik KMP - restriktif KMP - peripartum KMP</li></ul> <p><b>Kalp kapak hastalıkları</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Mitral darlığı veya yetmezliği</b></li><li>• <b>Aort darlığı veya yetmezliği</b></li><li>• <b>Pulmoner darlık veya yetmezlik</b></li><li>• <b>Trikuspid darlığı veya yetmezliği</b></li></ul>	<p><b>Perikardiyal hastalıklar</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Efüzyon</li><li>• Konstriksiyon</li></ul> <p><b>Endokardiyal/endomyokardiyal hastalıklar</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Loeffler endokarditi</li><li>• Endomyokardiyal fibrosis</li></ul> <p><b>Konjenital kalp hastalıkları</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Örn. ASD veya VSD</li></ul> <p><b>Genetik</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Ailesel dilate KMP</li></ul> <p><b>Aritmiler</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Atriyal ve ventriküler aritmiler</li><li>• İleti bozuklukları</li></ul> <p><b>Hiperdinamik KY)</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Anemi</li><li>• Sepsis</li><li>• Tirotsikoz</li><li>• Paget hastalığı</li><li>• AV fistül</li></ul> <p><b>Volüm fazlalığı</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Böbrek yetmezliği</li><li>• İyatrojenik</li></ul>
--	--

Hücre iskeleti; desmin, titin ve alfa ve beta tubulinden oluşur. Ayrıca vinkülin, talin, distrofin ve spektrin gibi membran ilişkili proteinler de vardır. Genetik testler arasında da girmiş olan titin, dilate KMP hastalarında azalırken (down regülasyon), desmin, vinkülin ve tübülin ise artış (up regülasyon) göstermektedir (36).

**Kalbin enerji metabolizmasında** kabaca 3 komponent vardır, bunlar; substrat kullanımı, oksidatif fosforilasyon ve yüksek enerjili fosfat metabolizması olarak sıralanabilir. KY’ de bu üç aşamada da aksaklıklar ve patolojik değişiklikler olmaktadır ve bu patolojik değişimler sonrasında bozulan oksidatif fosforilasyon sebebi ile kalp kası hücrelerine giren ATP miktarı azalır ve kalp fonksiyonlarındaki bozulma daha da artar (74-78).

### 1.1.5. TANI

Tanıda ilk aşama hastanın dinlenmesi ve sorgulanması ile başlar. Bu kısım genel olarak hastanın tarif ettiği ve bazen de hekimin sorularla ortaya çıkardığı semptomatoloji kısmıdır. Daha sonra fizik muayene ve laboratuvar bulguları ile tanıya gidilir. İlerde bahsedilecek olan semptom ve bulgulardan oluşan, Framingham kriterlerine göre; 2 major ya da 1 major + 2 minör kriterle tanı konulabilir (bkz tablo-5) (79).

Genel yaklaşım ve testler benzer olmakla birlikte, elde edilen bilgiler ışığında KY tanısında akut KY ve kronik KY' ne yaklaşımda pratikte bazı farklılıklar olabilir.

#### 1.1.5.1 Semptomlar

**Halsizlik**, KY' de en sık rastlanan semptomdur. En sıktır fakat spesifik bir semptom olmadığından birçok kardiyak olmayan hastalıklarda da görülebilir.

**Nefes darlığı** veya hava açlığı KY' de görülen kardinal semptomlardandır ve ilk başlarda egzersiz dispnesi şeklinde farkedilir. Birçok başka patolojilerde de görülebilir fakat halsizliğe göre daha spesifiktir. Artmış akciğer basınçları, akciğer kompliyans değişiklikleri, solunumsal disfonksiyon, artmış havayolu direnci ve olası düşük hemoglobin konsantrasyonları sebep olabilir (80).

**Tablo-5: Framingham Kriterleri (79)**

<b>Major Kriterler</b>	<b>Minör kriterler</b>
Paroksizmal nokturnal dispne	Ayak bileği ödemi
Juguler venöz dolgunluk	Gece öksürüğü
Yaş raller	Efor dispnesi
Kardiyomegali	Hepatomegali
S3 galo	Plevral efüzyon
Akut akciğer ödemi	Vital kapasitede azalma
Artmış juguler venöz basınç	Taşikardi
Kapiller dolum zamanı uzaması (> 25 sn)	
Hepatojuguler reflü	
Pulmoner ödem ve visseral konjesyon	
KY tedavisine cevap varlığı (efektif kilo kaybı)	

**Ortopne**, yatar pozisyonda iken hastanın hava açlığı çekmesidir ve yine ana belirtilerendir.

**Paroksizmal nokturnal dispne**, adından da anlaşılacağı gibi geceleri, uykuda ortaya çıkan bir belirtidir. Hasta ciddi hava açlığı içerisinde uyanır, dik oturur ve rahat nefes almaya çalışır.

**Konfüzyon, oryantasyon bozukluğu, uyku veya duygu durum bozukluğu gibi serebral semptomlar** da ileri dönem KY hastalarında karşımıza çıkabilir. Genelde temel sebep KY'ye bağlı hiponatremidir ve özellikle yaşlılarda KY tanısında ilk başlangıç semptomu olabilir (81,82).

Özellikle karaciğer ve gastrointestinal sistemde (GİS) konjesyon ile birlikte hastalarda **bulantı, kusma** ve **abdominal ağrı** gibi yakınmalar da ortaya çıkabilir.

### **1.1.5.2 Bulgular**

Kalp yetmezliği tanısında bulgular kısmı, fizik muayene(FM) bulguları ve laboratuvar bulgularından oluşur.

**FM**, klasik olarak sırasıyla inspeksiyon, palpasyon ve oskültasyondan (kalp ve akciğer alanları) oluşur. Perküsyon ise tanı araçlarının kısıtlı olduğu dönemlerde kullanılmış, fakat günümüzde kullanılmamaktadır.

### **Laboratuvar Testleri**

**1. Temel Biyokimyasal Tetkikler:** Tam kan sayımı, böbrek fonksiyonları (üre, kreatinin, elektrolitler), karaciğer fonksiyonları gibi parametreleri kapsayan geniş biyokimyasal tetkik yapılmalıdır.

#### **Ek Tetkikler :**

**Natriüretik peptitler:** KY belirti ve bulgularının tamamen spesifik olmaması, KY şüphesi ileri tetkik yapılan hastalarda anlamlı kardiyak patoloji saptanmamaktadır. Bu sebeple ekokardiyografi ve ek tetkiklere imkan olmayan durumlarda KY' de artan BNP ve Pro-BNP molekülleri tanıda ve kardiyak dışı patolojilerin ayırt edilmesinde kullanışlıdır. Ayrıca prognostik değere de sahiptir (83-85).



**Endokrinolojik testler:** Özellikle ritim anormallikleri ve KY dekompanseasyonunda rolü olduğu için hipotiroidi ve hipertiroidi açısından olanak varsa bu testler yararlı olur ve tanı aşamasında rutin bakılması önerilmektedir (2).

**İdrar analizi:** Kalp yetmezliği etiolojisi ve tedavi stratejileri değerlendirilmesinde faydalı olabilir, özellikle akut dekompanseasyon durumlarında idrar yolu enfeksiyonlarının da sık sebeplerden olduğu akılda tutulmalıdır.

## **2. Elektrokardiyografi(EKG)**

Altta yatan etiolojisi konusunda bilgi verir. Fakat KY hastaları normal EKG ile de karşımıza çıkabilirler bu nedenle duyarlılığı sınırlıdır. Kalp hızı, aritmi, akut iskemik olay gibi durumların değerlendirilmesinde çok yararlıdır (86) .

## **3. Görüntüleme Testleri**

**Akciğer grafisi:** Hem tanı anında hem de tedavi takibinde kullanılabilen bir testtir. Tanı aşamasında, kardiyomegali, pulmoner ödem bulguları ve/veya plevral efüzyon görünümü saptanabilir (87).

**Transtoraksik Ekokardiyografi (TTEKO):** TTEKO KY' de altta yatan sebeplerin belirlenmesinde çok önemli ve pratik bir tanı aracıdır. Ekokardiyografi, kardiyak anatomi ve SV-EF değeri, duvar hareketleri, sağ ventrikül işlevleri, pulmoner arter basıncı, kalp kapakları ve perikart ile ilgili güvenli bilgiler sağlamaktadır. Hem akut dönemde tanı anında hem de takipte kullanılmalıdır (2).

**Transözofajiyal EKO (TÖE):** TÖE, TTEKO pencereleri yetersiz olduğunda ve non-invaziv olan diğer görüntüleme yöntemleri olmadığında gereklilik halinde kullanılır. Bunların dışında rutin kullanımda yeri yoktur (2).

**Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme (KMRG) ve bilgisayarlı tomografi (KBT):** Rutin kullanımı önerilmez fakat özellikle komplike doğumsal kalp hastalıkları ve eşlik eden damarsal anomalilerin saptanması açısından kullanımları mevcuttur ve yararlıdır. Pratik kullanımda bu tetkiklere EKO kadar sık başvurulmaz (2,87).

**Koroner anjiyografi (KAG) ve kateterizasyon:** KY en sık sebep KAH olduğu düşünüldüğünde akut dönemde olmasa da, tanıdan sonra etiyojisi belirlenmesi amacıyla gerekli olabilecek bir tetkiktir. Kateterizasyon, sağ ve sol kalp boşluklarının, pulmoner

yatağın basınçlarının ölçümüne olanak sağlarken ayrıca EF değerlendirmesinde ventrikülografi tetkiki de yararlı olabilir (87).

#### **4. Egzersiz Temelli Testler**

**Miyokard perfüzyon sintigrafisi(MPS):** Koroner arter hastalığı tanısında veya tanı konulmuş vakalarda canlılık değerlendirilmesi konusunda başvurulabilir (87).

#### **Metabolik Egzersiz Testi**

Gaz değişim ölçümlerinin değerlendirmesi amacıyla yapılan bir testtir, ayrıca fonksiyonel sınıf hakkında da değerlendirme olanağı sağlar. Özellikle KY komplike tedavi protokolleri(destek cihazları, transplantasyon) zamanlaması açısından klinik kullanımı mevcuttur ve yardımcıdır (2).

#### **5. Endomiyokardiyal Biyopsi(EMB)**

Etiyolojisi rutin testler ile saptanamayan ve hızla kötüleşme eğiliminde olan ya da KY tedavisine cevabı olmayan hastalarda düşünülebilecek bir tetkiktir (87).

#### **1.1.6. PROGNOZ**

Son yıllarda tanı, tedavi ve takip gibi konularda etkin gelişmeler olmasına rağmen KY, mortalite ve morbidite oranı yüksek olan bir halk sağlığı problemidir. KY hastaları çoğunlukla kardiyovasküler (KV) nedenlerle kaybedilir ve tüm KY hastaları için 5 yıllık mortalite oranı %50' dir. Bu oran son dönem KY hastalarında ise yılda %75' lere kadar çıkmaktadır. Framingham çalışmasının bir kolunun 1948 ve 1988 yılları arasındaki takiplerinde çok kötü prognozlu dışlanmasına rağmen, sağkalım süreleri erkeklerde 1.7 yıl ve kadınlarda ise 3.2 yıl olarak saptanmıştır. Fakat bu oran şimdilerde daha kötü değildir ve sağkalım süreleri yeni gelişmelerle daha da artmıştır (88).

##### **1.1.6.1. Mortalite ile İlişkili Faktörler**

**1. Klinik faktörler:** Genelde KY hastalarında, erkek cinsiyet, koroner arter hastalığı varlığı, ileri yaş, sürekli olarak S3 duyulması, sistemik basınç ve nabız basıncı düşüklüğü, semptomların uzun süreli olması, Cheyne-Stokes solunum paterni, uyku apnesi, kardiyak kaşeksi ve depresyon varlığı gibi KY' ye bağlı faktörler kötü prognozla ilişkilidir. Ayrıca komorbid hastalıkların(DM, KBY vs.) bulunması da kötü prognoz ile ilişkilidir (88).

**2. Hemodinamik ve yapısal faktörler:** Hemodinamik olarak sağ ve sol ventrikül EF ve kardiyak indeks (KI) düzeyleri sağkalımla doğru orantılı iken, kalp hızı, sistemik ve pulmoner vasküler direnç, pulmoner arter ve saplama basıncı ile ters orantılıdır. Diğer yandan sistolik fonksiyonların yanında ventrikül diastolik fonksiyonlarının da bozulması prognoza negatif etki etmektedir (88).

Kötü prognostik göstere olabilecek yapısal faktörler ise; artmış kardiyotorasik oran, EKO' da genişlemiş kalp boşlukları ve/veya fonksiyonel kapak yetmezlikleridir(mitral ve triküspit) (88).

**3. Biyokimyasal faktörler:** Artmış plazma noradrenalin, renin, vazopressin, aldosteron ve natriüretik peptitler (ANP ve BNP) ve ET-1 gibi faktörlerin bulunması KY prognozunu kötüleştirmektedir. Ayrıca artmış TNF-alfa, IL-1,IL-6 düzeyleri ve hiponatremi de bunlar arasında dahil edilebilir (88).

4. Elektrofizyolojik faktörler: KY hastalarında aritmilere bağlı ölümler çok sıktır. Özellikle ventriküler ekstra sistoller, ventriküler taşikardi, sol dal bloğu ve atriyal fibrilasyon belirgin olmak üzere diğer aritmiler de dahil olmak üzere bu faktörlerin negatif etkisi saptanmıştır. Ventriküler aritmilerde, bu negatif etkinin en ciddi formu ani kardiyak ölümdür ve antiaritmik ilaçlar ile aritmojenik tablo engelleniyor gibi görünse de mortalite azalması bu ilaçlarla genel olarak sağlanamamıştır. Bu konuda son yıllarda implante edilebilir defibrilatörlerin (ICD) yararı gösterilmiştir ve hem primer hem de sekonder korunmada bu cihazlar sık olarak kullanılmaktadır. Diğer parametreler arasında, mortalite artışı ile ilişkili olan QT uzaması, T dalga inversiyonu ve azalmış kalp hızı değişkenliği yer almaktadır (88).

### 1.1.7. KY TEDAVİSİ

KY tedavisinde ilk basamak olarak bahsedilmesi gerekenler; hasta eğitimi, tedavi uyumu, yaşam şekli değişiklikleri ve diyetle yönelik düzenlemelerden oluşan genel tavsiyeler kısmıdır. Daha sonra farmakolojik tedavi gelmektedir.

KY farmakolojik tedavisi, dekompanse olmuş KY veya kronik stabil KY' nin tedavisi şeklinde ayrılabilir. Bunun yanında stabil olan kısımda da; DEF-KY ve KEF-KY tedavileri ayrı olarak değerlendirilmektedir. Gerek yeni tanı olarak, gerekse de kronik KY zemininde dekompanse olarak klinikte tanı konan hastalarda hedef, hastanın hemodinamik stabilizasyonu, hayati organ perfüzyonu ve dolum basınçlarının geriletilerek optimize edilmesi sağlandıktan sonra kronik tedaviye geçiş sürecinin başlatılmasıdır (87).

### 1.1.7.1. Akut Dekompansé KY Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

**Diüretikler**, akut safhada diürez yoluyla artmış intravasküler volümün atılması ile ventrikül dolum ve pulmoner vasküler yataktaki basınların azaltılması yoluyla kısa sürede semptomlarda gerileme sağlayabilmektedir. Genelde ilk tercih edilen diüretikler, daha potent olan loop diüretikleridir ve bunlardan da furosemittir. Diğer diüretikler olan tiyazit, potasyum tutucu ve aldosteron antagonistleri olan diüretikler akut tedavide zorunlu olmamakla birlikte diüretik direnci durumunda ve kronik tedavide kullanılabilirler. Aslında aldosteron antagonistleri haricindeki diüretikler KY seyrini etkilemezler fakat bahsedilen volüm yükü atılması ile semptomatik iyileşmenin yanında dolum basınçlarını ve duvar stresini azaltarak yeniden şekillenmenin ilerlemesini yavaşlatabilirler (89).

**Vazodilatatörler**, kalbin ön yükünü ve ard yükünü azaltarak etki gösterir. Bu grupta kullanılabilen ajanlar; organik nitratlar, nitroprussit, hidralazin ve NP' ler (örn. nesiritit) klinik olarak kullanılmaktadır (89).

**Adrenerjik agonistler**, insan kalbinin kasılma fonksiyonunun güçlendirilmesi için dekompanse KY' de tercihen kısa süreli olmak üzere sık kullanılmaktadır. Bu konuda temel olarak beta agonist etkiden yararlanılmaktadır. Dobutamin, dopamin, adrenalin, izoproterenol ve noradrenalin bu grup içinde en sık kullanılanlardır ve bazılarının beta bazılarının alfa ve bazılarının ise her iki etkisinden de yararlanmak hedeflenerek tedavide kullanılır (89).

**Kardiyak glikozitler**, daha çok stabil kronik KY hastalarında diğer mortalite önleyici ilaçlarla kombine edilir. Fakat gerektiğinde, pozitif inotropik ve elektrofizyolojik özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (89).

**Fosfodiesteraz inhibitörleri**, hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonu üzerine etkileri ile kontraktil fonksiyonu güçlendirdiği, venöz kapasitansta ve pulmoner yatakta vazodilatasyon özelliklerinden ötürü KY hastalarında kullanılabilir. Bu grupta amrinon, milrinon ve enoksimon gibi ajanlar bulunmaktadır. Çalışmalarda mortalite konusunda doyurucu yararları yoktur ve seçilmiş vakalarda kullanılması düşünülebilir. Ayrıca fosfodiesteraz inhibitörü ailesinden olan kalsiyum duyarlılaştırıcı ajanlar da mevcuttur ve bunlardan levosimenden uygun vakalarda akut dönemde tercih edilebilir (89).

Mortalite üzerine olumlu etkileri olan diğer ilaçlar; anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (**ADEi**), anjiyotensin reseptör blokerleri (**ARB**), antiadrenerjik ilaçlar (**beta blokerler**) ve mineralokortikoid antagonistleri (**spironolakton**) daha hemodinamik stabilite

sağlanmış hastalarda kullanılmaya başlanan kronik stabil KY hastalarının değişmez ilaçlarıdır ve ileride değinilecektir.

### **1.1.7.2. Sistolik KY Tedavisinde Kullanılan İlaçlar**

**ADEi**, KY tedavilerinin içinde etkinliği birçok çalışma ile kanıtlanmış ilaçlardır. Bu ilaçlar, sağkalımı belirgin uzatır ve yeniden hastaneye yatışları azaltır. Hatta bu etkiler eşlik eden yaş, cinsiyet ve kullanılan ek ilaçlar gibi faktörlerden bağımsız olarak da ortaya çıkmaktadır. Fonksiyonel sınıfına bakılmaksızın tedavide ilk seçenek olmazsa olmaz ilaçlardandır (90-94).

**Beta blokerler (BB)**, ADEi' den daha fazla randomize kontrollü çalışma verisi olan ilaçlardır ve ispatlanmış mortalite, morbidite ve hastaneye yatışlar konusundaki olumlu etkileri ile gene ilk basamak tedavi seçeneklerindedir (95-99).

**Mineralokortikoid/Aldosteron reseptör antagonistleri (MRA) spironolakton ve eplerenon**, aldosteron ve diğer mineralokortikoid reseptörlerini bloke eder. Büyük çaplı çalışmalarla bu grubun da mortalite ve morbidite üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir ve hafif semptomları olan KY hastalarında bile kullanımı önerilmektedir (100,101).

**ARB' ler** de KY de kullanılan bir diğer grup ajandır ve genel görüş ADEi kullanılmadığı zaman, yerine kullanılmasıdır (102).

**İvabradin**, son yıllardaki çalışmalarla tedavide yer edinen ve sinüs düğümündeki If akımı inhibisyonu ile sadece sinüs ritmindeki hastalarda kalp hızını yavaşlatıcı etkisinden yararlanan bir ilaçtır. Klasik KY tedavi seçeneklerine ilave olarak kullanıldığında yararlı olduğu düşünülmektedir (103).

**Digoksin ve diğer digital glikozidleri**, genel olarak semptomatik KY olan ve eşlik eden atriyal fibrilasyonu(AF) olan hastalarda kalp hızı kontrolü için kullanılır. Diğer digitaller ile ilgili çalışma yoktur (89).

**Hidralazin ve isosorbid dinitrat kombinasyonu**, ADEi veya ARB kullanılmayan hastalarda beta bloker ve MRA ile combine edilmedi mortalite ve hastaneye yatışlarda olumlu etki göstermektedir (2).

MRA dışındaki diüretiklerden ise kronik stabil hastalarda da nefes darlığı ve ödemi azaltmasından dolayı gerekli hastalarda kullanılır. Fakat mortaliteye ve morbiditeye dair araştırmaları yoktur. Uygun hastalarda kullanımı güzel sonuçlar vermektedir (2).

Ayrıca endikasyonuna göre antitrombositler ve antikoagulan ajanlar gerekli hastalarda

kullanılmaktadır fakat her hastada kullanımı bulunmamaktadır.

### **1.1.7.3. Diyastolik KY Tedavisinde Kullanılan İlaçlar**

Bu hastalarda şimdiye kadar mortalite ve morbiditede yararı gösterilmiş ilaç gösterilememiştir. Klasik kullanılan KY tedavi seçenekleri uygun hastalarda kullanılmaktadır (2).

### **1.1.7.4. KY' de Cihaz Tedavileri**

**İmplant edilebilir kardiyak defibrilatörler (IKD)**, KY' de ölümlerin büyük bölümünü oluşturan aritmiler konusunda koruyucudur ve uygun hastalarda hem primer hem de sekonder korumada kullanımı yaygındır ve kabul görmüştür (104-107).

**Kardiyak resenkronizasyon tedavisi (KRT) ve kalp destek cihazları** da uygun KY hastalarında mortalite ve morbiditeye olumlu katkılarından dolayı son yıllarda kullanımı artan seçeneklerdendir (2).

### **1.1.7.5. Kalp Nakli**

Kalp nakli son dönem KY için nihai tedavi olarak görülmektedir ve uygun hastalarda son durak nakildir (108,109).

### **1.1.8. KY' de BİYOBELİRTEÇLER**

Bazı hastalıklarda tanı, takip, prognoz tayini, tedaviye cevabın izlenmesi ve tedavinin titre edilmesi gibi konularda yardımcı olan ve kullanımı ile klinik sonuçlarında iyileşmeler sağlayan ve 'Biyobelirteç' denilen moleküller rutin olarak kullanılmaktadır. Bu moleküller bahsedilen konularda strateji belirleme açısından yararının yanında klinisyeni fazla tetkik yapmaktan kurtarır ve maliyet etkinlik açısından da yarar sağlar (110-112).

KY' de en fazla araştırılmış olan NP' lerdir. En fazla kullanılanlar ise; BNP ve N-terminal prohormon BNP (NT-ProBNP)' dir. Bu moleküller standart olarak KY' de kullanılmaktadır (111).

#### **1.1.8.1. Natriüretik Peptitler(NP)**

BNP, 1988 yılında domuz beyninden izole edildiği için bu ismi almış fakat sonra miyositlerden duvar stresine bağlı olarak sentez edilerek dolaşıma verildiği tespit edilmiştir. BNP, temizleyici reseptör tip C, nötral endopeptidazlar (NEP) ve böbrekten filtrasyon yoluyla

elimine edilmektedir. BNP' nin yarı ömrü 20 dakika iken NT-proBNP' nin ise 1-2 saat arasındadır ve plazmadaki dalgalanması daha azdır (113).

### **Tanıda**

KY' de tipik olarak gördüğümüz fizik muayene bulguları ve semptomlar KY' ye spesifik değildir. Yani acil servise nefes darlığı ile gelen bir hastanın bulguları KY benzeri tablo olsa da eşlik eden diğer bazı hastalıklar nedeniyle de olabilir (örn: kardiyojenik olmayan akciğer ödemi tablosu). Bu durumda birçok tetkik yapmak yerine hastalarda BNP değerlerinin belirlenmesi yardımcı olabilmektedir. BNP 100 pg/ml değerinin üstünde KY için % 76 spesifik ve % 90 sensitif saptanmıştır ve bu oranlar tarama testi yeterliliği açısından tatmin edicidir (114). Son Avrupa Kardiyoloji Cemiyeti KY kılavuzlarında da akut veya kronik KY tablolarında ayrı ayrı olmak üzere sınır değerler belirlenmiştir (2).

### **Takipte**

Tanıda olduğu gibi takipte de etkin olarak kullanılmaktadır. Framingham verilerine bakıldığında asemptomatik fakat organik kalp hastalığı olan grupta gelecekteki KV olaylar açısından öngördürücü bulunmuştur (115). Acil servise başvuran hastaların hastaneye yatış gerekliliği veya taburculuğu konusunda öngördürücü olduğu gibi hastaneye yatan hastaların da tedaviye cevabı, mortalitesi ve yeniden hastaneye yatışı konularında da fikir vermektedir (116,117). Taburculuk sırasında yüksek BNP değerleri yediden hastaneye yatış ve mortalite konularında bağımsız bir öngördürücü olarak karşımıza çıkmaktadır (118).

### **Tedavi Yönetiminde**

Tedavi konusunda NP' ler birçok çalışmayla araştırılmış ve yararlı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan hatırı sayılır çalışmalarda özellikle 75 yaş altı hastalarda semptomlara göre ve NT-proBNP değerlerine göre yönetilen tedavi stratejileri karşılaştırılmış, klinik sonuçlarda iyileşme gözlenmiştir. Fakat 75 yaş üstünde iki grup arasında fark saptanmamıştır (119-121).

Bu arada NP' lerin değişik sebeplerden dolayı, düzeylerinde artma veya azalma olabilir. Çalışma verileri ile hem KY toplumunda, hem de normal toplumda yaş ile birlikte NP düzeyleri daha yüksek olma eğilimindedir. Aynı şekilde kadın cinsiyette de durum benzerdir (115,122-124). KY dışında özellikle akut koroner sendromlar ve akciğer hastalıklarında da NP düzeyleri yüksek saptanır fakat bu yükseklik KY hastalarındaki düzeyde değildir (125).

Obez hastalarla normal vücut yüzey oranına sahip bireyler karşılaştırıldığında; obezlerde NP düzeyleri daha düşük olmaktadır (126). Ayrıca Kronik böbrek hastalığı olan bireylerde de böbrek eliminasyonunun azalmasına bağlı daha yüksek saptanmaktadır (127).

#### **1.1.8.2. Diğer Biyobelirteçler**

NP' ler dışında KY' de düzeyleri normal topluma göre farklı olan birçok molekül saptanmıştır fakat NP' ler gibi rutin klinik kullanıma girmemiştir.

##### **Adrenomedullin(ADM)**

Vazodilatatör etkisi olan bir peptittir ve KY' de yüksek saptanmaktadır. Stabil formu olan proadrenomedüllin (MR-proADM) 1641 kişinin dahil edildiği bir çalışmada NT-proBNP ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucuna göre; 90 günlük sonuçları öngörmede NT-proBNP' ye üstün bulunmuştur (128). Aynı şekilde 14 günlük mortalite öngörmede de üstün bulunmuştur (129). Klip ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada da; MI sonrası KY gelişen hastalarda saptanan yüksek MR-proADM değerleri 3 kat artmış tüm nedenlere bağlı mortalite ile ilişkili bulunmuştur.

##### **ST2**

İL-1 reseptör ailesindedir ve KY hastalarında miyositlerdeki mekanik stres sonrası artmaktadır (130). Ayrıca ST2' nin ligandı olan interlökin-33 de mekanik stres ile artmaktadır (131). NP' lerin değerlendirildiği bir çalışmada aynı zamanda ST2 de değerlendirilmiş ve KY ciddiyeti ile korelasyon gösterdiği ve 1 yıllık mortalitede öngördürücü olduğu saptanmıştır. Fakat KY tanısında yardımcı değildir (132).

##### **Büyüme farklılaşma faktörü-15(growth differentiation factor-15= GDF-15)**

GDF-15, TGF-beta sitokin ailesinin bir üyesidir ve KY' de potansiyel biyobelirteç adaydır (133). Karaciğer kökenlidir fakat stres sonrası miyositlerden de salgılanmaktadır. Kalp üzerine değişik mekanizmalarla koruyucu etkileri vardır (134-136). Semptomatik KY hastalarında yüksek GDF-15 düzeyleri mortalite ve kötü sonlanımlarla korelasyon gösterdiği saptanmıştır (137). Tüm sonuçlara rağmen bu molekül kalp spesifik olmadığı için tek başına kullanılarak değil diğer verilerle kombine edilerek kullanılırsa bazı hastalarda yararlı olabilir.



### **Galektin-3**

Galektin-3, kardiyak yeniden şekillenmede rolü olan ve fibroblast artışı ve kollajen depolanması ile fibrozise neden olan aktive olmuş makrofajlardan salgılanan bir moleküldür (138). KY' de prognostik gösterge olabilirliği ile ilgili olumlu sonuçlar veren çalışmaları vardır. Daha çok yeniden şekillenme ve fibrozis patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir. Akut koroner sendrom hastalarında yapılan bir çalışmada yüksek galektin-3 düzeyleri KY gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. KY hastalarında yapılan diğer bir çalışmada ise, galektin düzeyindeki 3 kat artış ile tekrar hastaneye yatışlar ve mortalite arasında korelasyon saptanmıştır. Aynı çalışmada NYHA sınıf 3 ve üzeri hastalarda galektin-3 düzeyleri belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır (139-141). Fakat prognostik belirteç olma konusundaki anlamlı sonuçlar, tanı aracı olabilirliği konusunda henüz saptanmamıştır (142).

### **Pentraksin-3 (PTX3)**

Vasküler inflamasyon konusunda CRP' den daha özgül olduğu düşünülen bu molekülün KY' de istenmeyen olayları öngörmeye faydalı olduğunu gösteren veriler bulunmaktadır (143-145). Özellikle Matsubara ve arkadaşlarının saptadığı, dikkate değer bir veri; bu molekül KEF-KY hastalarında belirgin yüksek iken DEF-KY hastalarında ise yükselmemiştir (146,147). Mevcut durumda geniş çaplı çalışmaları olmayan molekülün ileride, vasküler inflamasyon, diyastolik disfonksiyon ve KY' de kullanılabileceği düşünülebilir.

Bunlardan başka değişik çalışmalarla prognoz öngörmeye (yeniden hastaneye yatış, mortalite vs) çeşitli çalışmalarla anlamlı sonuçlar alınmış ve KY patogenezinde adı geçen; yüksek duyarlıklı CRP, CRP, İL-1, İL-6, TNF-alfa, myeloperoksidaz, ET-1, matriks metalloproteinazlar, troponinler ve daha başka birçok biyobelirteç de saptanmıştır. Fakat klinik kullanımda KY' ne özgül olarak NP' ler gibi kullanıma giren yoktur (66,148-157).

#### **1.1.9. Mikro RNA' lar (miRNA)**

miRNA' lar, birçok dalda yapılan araştırmalarla gizemi ve önemi gittikçe daha çok anlaşılan, 21-23 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli RNA molekülleridirler. Mesajcı RNA'nın (mRNA) kısmi tamamlayıcısı olan bu moleküller, gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynarlar. İlk olarak 1993 yılında tesadüfen keşfedilmiştir ancak miRNA olarak adlandırılması 2001 yılında olmuştur. miRNA' lar protein kodlamaz, DNA' dan

transkripsiyonu, proteine çevirisi olmayan genler tarafından gerçekleştirilir (158,159).

miRNA' ların, hücre proliferasyonu, hücre diferansiyasyonu, embriyogenez ve kök hücre oluşumu, organogenez, nöronal diferansiyasyon, hematopoez, apoptosis, kanser gelişimi, enfeksiyonların gelişimi, kalp ve akciğer hastalıkları gibi birçok hastalıkta fonksiyonları saptanmıştır (160). RNA interferans; gen ekspresyonlarının RNA üzerinden düzenlenmesine denir ve miRNA' lar etkilerini RNA interferans üzerinden gerçekleştirir. Bu düzenlenmenin merkezini küçük RNA'lar (miRNA ve siRNA) oluşturmaktadır. miRNA'lar, hedef mRNA'ya bağlanma şekline göre posttranskripsiyonel etki gösterir ve gen fonksiyonlarına etki eder. mRNA ile miRNA arasındaki bağlanmada tam bir uyum var ise, mRNA degrade olur, kısmi bir uyum var ise mRNA translasyonu baskılanır (161). miRNA' lar mRNA' lara göre daha korunaklı bir mikroçevreye sahip olduklarından, daha stabildirler ve uygun koşullarda bekletilmiş arşiv materyalinden uzun süre geçmesine rağmen çalışılabilmektedir (162). Oldukça fazla olan çalışmalarına rağmen, 'miRNA ekspresyonu ile mi patolojik durum ortaya çıkıyor, yoksa patolojik durumdan dolayı mı miRNA eksprese ediliyor?' tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (160).

İnsan genlerinin yaklaşık yarısı miRNA' ların hedefidir. Genel olarak protein kodlayan genlerin intronlarından köken alırlar (163). miRNA' lar ilk aşamada çift zincirli RNA' dan (dsRNA) RNA polimeraz-II enzimi ile birincil (primer) transkript veya pri-miRNA olarak yazılır ve sentezlenir. Bu pri-miRNA' ların 5' ucunda guaninden zengin başlık, ve 3' ucunda ise poli-A kuyruğu vardır. Bunlar hücre çekirdeğinde, RNAaz III ailesinden drosha ve kofaktörü DGCR8 (PASHA) (dsRBD: Çift zincirli RNA bağlayıcı protein) ile işleminden geçerek pre-miRNA olarak bilinen kısa, 70 nükleotid uzunlukta, sap-ilmik şekilli, öncül (prekürsör) yapılara çevrilir. Oluşan bu ürün ekspozin-5 (Exp5) ve Ran-GTP moleküllerinin öncülüğü ile çekirdekte sitoplazmaya geçer. Daha sonra, sitoplazmadaki Dicer adlı endonükleaz ile etkileserek RNA duplesi oluşur. RNA duplesi ise helikaz aracılığı ile matür miRNA ve komplementer (tamamlayıcı) miRNA' ya dönüşür. Matür miRNA, miRNA ifadesi ve RNA interferanstan kaynaklanan gen susturmasından sorumlu olan RNA induced silencing kompleks (RISC) yapısı içine girer (164-167). mRNA regülasyonu da RISC kompleksinin mRNA ile bağlanma şekline göre değişmektedir. Tam yada tama yakın bir bağlanma olursa kompleks argonuate ailesi moleküllerinden olan Ago2 ile mRNA' nın degradasyonunu sağlar. Tam olmayan ve 3' UTR bölgesinden olan bağlanmada ise protein translasyonu baskılanır (168). İster tam, isterse tam olmayan

komplementerik sonuç protein ekspresyonunun down regülasyonu ile sonuçlanır (164,165)

Şimdiye kadar hücre gelişiminde, diferansiyasyonda, proliferasyonda ve apoptoziste önemli düzenleyiciler olan yüzlerce miRNA ve hedefleri olan binlerce mRNA saptanmıştır (169,170). Saptanan çoğu miRNA çeşitli hastalıkların patogenezinde rol almaktadır (171). Özellikle 2008 yılından itibaren periferik kandan izole edilebilirliğinin ve oldukça dayanıklı ve stabil bir yapıya sahip olduklarının daha net anlaşılması ile birlikte miRNA' lar hastalıkların tanısında, prognozunda ve tedavi konularında daha ayrıntılı araştırılmaya başlanmıştır (172-176). İlk keşfinden sonra en umutlu olunan konu kanserler olmuştur ve çoğu kanser tipinde araştırılmıştır. Araştırma konuları içinde tanı ve prognoz kısımları haricinde miRNA ların tedavideki yeri de vardır. Tedavide son yıllarda tanımlanmış olan 'Antogomir' denilen ve kimyasal olarak üretilmiş oligonükleotidler umut vaad etmektedir. Bu moleküller endojen miRNA' ların fonksiyonlarını baskılamak amacı ile kullanılmaktadır (177). Bu konudaki heyecan verici beklenti, başarılı olunduğu varsayılırsa, bir hastalığa ait sorunlu miRNA bölgesi saptanabildiğinde, ona tamamlayıcı olan antogomirin üretilmesi ile hastalığın önlenmesi mümkün olabilecektir. Fakat bu konu ile ilgili kat edilmesi gereken çok yol var gibi görünmektedir, çünkü miRNA' lar mı hastalık nedeni, yoksa hastalık mı miRNA artışı sebebi hala net değildir (160). Kanserler ve diğer bazı hastalıkların yanında son yıllarda kardiyovasküler hastalıklar alanında da birçok miRNA saptanmıştır ve tanıda yeni bir biyobelirteç olarak özellikle, MI, KY, ateroskleroz, hipertansiyon ve tip 2 diyabetes mellitus (DM) gibi hastalıklarda araştırılmıştır ve araştırılmaktadır (178).

### **KY ve miRNA' lar**

KY' ye sebep olabilecek kardiyak hipertrofi, fibrozis, aritmi ve koroner arter hastalığı gibi bozuklukların patolojisinde miRNA' lar çeşitli çalışmalarla araştırılmış ve ilgili bozukluklarda belirgin artan veya azalan miRNA' lar tespit edilmiştir. Bu çalışmaların çoğu hayvan deneylerinden elde edilmiştir ve klinik araştırmalara öncü olmuştur (179).

2009 yılında yapılan çalışmada sol ventrikül destek cihazı planlanan son dönem KY hastalarının tedavi öncesi ve sonrası miRNA düzeyleri, sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır. Sonuçta ilginç olarak bazı miRNA' lar cihaz tedavisi sonrası normalize olmuştur. Bu sonucun miRNA' ların kullanışlı bir miyokardiyal toparlanma belirteci olabileceği belirtilmiştir (180). Daha sonra klinik pratiğe yönelik diğer bir çalışmada, nefes darlığı ile tetkik edilen ve kardiyak ve kardiyak dışı dispne tanısında yardımcı olabilecek miRNA' lar araştırılmıştır.

Çalışılan miRNA' lardan özellikle miR-423-5p' nin tanıda güçlü bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca aynı molekülün NYHA sınıfı ve BNP değerleri ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (181). Başka bir çalışmada da, KY hastaları ve normal bireyler arasında bazı miRNA' ların düzeylerinin farklı olduğu saptanmıştır (182). En yeni yayınlardan olan, Yaron Goren ve arkadaşlarının çalışmasında ise, yaklaşık 186 adet miRNA, 30 sağlıklı birey ve 30 KY hastasında karşılaştırılmıştır. miR-423-5p, miR-320a, miR-22 ve miR-92b gibi bazı miRNA' lar belirgin olarak KY hastalarının dolaşımında daha fazla saptanmıştır (183).

Bu çalışmada da, literatür ve miRNA bilgi bankası verileri araştırılarak belirlenen; miR-22, miR-24, miR-92b, miR-320a, miR-423-5p ve miR-499 ve moleküllerinin KY hastaları ve normal bireylerde karşılaştırılması planlandı. (bkz tablo- 6)

**Tablo- 6 : Hedeflenen miRNA' lar**

<b>miR-22</b>	Kardiyak strese cevapta ve memeli progenitör hücrelerinin devamının sağlanmasında görevli
<b>miR-24</b>	Hipoksi ile KY geliştirilen farelerde ekspresyonu artar
<b>miR-92 ailesi</b>	Kardiyak stres ile düzeyi artar, apoptozisin devamını sağlayan genlerin düzeyini azaltır
<b>miR-320a</b>	Kardiyak koruyucu etkileri saptanmıştır
<b>miR-423-5p</b>	Patogenezi net değildir fakat KY hastalarında düzeyi EF ve NYHA sınıfı ile korele olarak artar
<b>miR-499</b>	Miyokart enfarktüsünde ve KY' de arttığı saptanmıştır

## **AMAÇLAR**

1. KY hastalarında, miR-499, miR-24, miR-92b, miR-423-5p, miR-320a ve miR-22 düzeyleri, hem akut dekompanse durumda, hem de tedavi sonrası kompanse durumda iken periferik kandan izole edilerek, sağlıklı kontrollerdeki düzeyler ile karşılaştırılacaktır.
2. Hastaların, dekompanse ve kompanse hallerindeki, miR-499, miR-24, miR-92b, miR-423-5p, miR-320a ve miR-22 düzeylerinin, farklılık gösterip göstermeyeceği araştırılacaktır.
3. KY' de, miRNA' ların kan düzeylerinin, tanı, tedavi ve prognoz (hastane içi ve hastane sonrası 30 günlük) aşamalarında biyobelirteç olarak kullanılabilirliği araştırılacaktır.
4. Hastane içi klinik veriler ile miRNA düzeyleri karşılaştırılacaktır.

## **HİPOTEZ**

1. miR-499, miR-24, miR-92b, miR-423-5p, miR-320a ve miR-22 KY hastalarında normale göre daha farklı olacaktır.
2. Farklılık gösteren bu miRNA' lar, hastaların dekompanse ve kompanse hallerinde, tedavi sonrası değişecektir. (Natriüretik peptitler gibi).
3. Bu farklılık, KY hastalarında, tedaviye cevap ve hastane içi prognoz ile ilgili öngördürücü bilgiler verecektir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 11 Mayıs 2012 tarihinde, etik kurul onayı alınarak, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) Kardiyoloji ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalları ile ortaklaşa gerçekleştirilmiştir.

### 2.1. Hasta Grubunun Özellikleri

EÜTF Kardiyoloji Kliniği yoğun bakımına akut dekompanse KY tablosu ile yatan, daha önceden KY tanılı veya yeni tanı konmuş hastalar çalışmaya dahil edildi. Toplam 47 adet kriterlere uygun hasta, çalışma anlatıldıktan ve gönüllü onam formu imzalatıldıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

#### 2.1.1. Dahil Edilme Kriterleri

- 18-80 yaş aralığındaki hastalar
- Akut dekompanse kalp yetmezliği öntanısı ile kardiyoloji yoğun bakımına yatan, tetkik ve incelemelerinde kesin kalp yetmezliği tanısı konulan veya daha önceden kalp yetmezliği tanısı olan hastalar
- Bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalayan hastalar.

#### 2.1.2. Dışlama Kriterleri

- Çalışma izlem şemasının gereklerini yerine getirmemek
- Çalışma programını aksatmak
- Son dönem böbrek yetmezliği hastalığı ve/veya hemodiyaliz programında olmak
- Gebelik ve gebelik sonrası ilk 6 ayında olmak
- Yeni teşhis edilmiş veya tedavi edilmiş kanser tanısı almak
- Kalp destek cihazı(Asist Device) olmak
- Kardiyak resenkronizasyon tedavisi(CRT) yapılmış olmak
- Yatış sırasında serebrovasküler olay (SVO) geçiriyor olmak
- Protez kalp kapağı bulunmak
- Kalp kapak hastalıklarına sekonder kalp yetmezliği bulunmak

## **2.2. Kontrol Grubunun Özellikleri**

Kontrol grubu, hasta grubu ile aynı yaş grubunda olan ve KY olmayan bireyler olarak belirlenmiştir. Koroner arter hastalığı, malignite tanısı, organik kardiyak patolojisi olmamasına özellikle dikkat edilmiştir. Diğer dışlama kriterleri hasta grubu ile benzer olarak belirlenmiştir. Gönüllüler, EÜTF kardiyoloji kliniği poliklinik veya yataklı biriminde takip edilmiş olan koroner anjiyografi tetkiki normal olan veya daha önce koroner arter hastalığı tanısı olmayan, yapılmış stres testleri negatif olan hastalardan seçilmiştir. Aynı şekilde çalışma anlatılarak gönüllü onam formu imzalatılmıştır.

## **2.3. Çalışma Yöntemi**

Akut dekompanse KY ile ilgili kliniğe yatan ve dahil edilen hastalardan yatış sırasında 4 cc venöz kan alınmıştır. Hazırlanan olgu rapor formunun anamnez, yatış öncesi ilaçlar, vital bulgular, EKG, boy ve ağırlık bölümlerinden oluşan ilk bölümü ayrıntılı olarak doldurulmuştur. Her hastanın, görülebilen dekompanseasyon nedeni de ayrıca not edilmiştir. Daha sonra, optimal medikal tedavi veya ek uygun girişimsel tedavi sonrası taburculuk sırasında tekrar 4cc daha venöz kan alınmıştır. Alınan kanlar en kısa sürede soğuk zincir ile Tıbbi Genetik AD.' na götürülerek -80 selsiyus derecede saklanmıştır. Hastane çıkışı öncesi olgu rapor formunun kalan kısmı olan, hastane içi tedavi, yapılan biyokimyasal tetkikler, EKO, EKG ve morbidite kısımları ayrıntılı olarak doldurulmuştur. Hastane içi ölen hastaların olgu rapor formu da durumuna uygun şekilde doldurulmuştur. Son aşamada ise taburculuk sonrası birinci ayda hastalar aranarak tekrardan hastaneye yatış ve ölüm durumları sorgulanmıştır.

Kontrol grubu bireyleri bahsedildiği gibi koroner arter hastalığı ve KY olmayan hastalar olarak belirlenmiştir. EKO parametreleri de olan hastalar değerlendirmeye alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı şekilde 4 cc venöz kan alınarak aynı şartlarda taşınmış ve saklanmıştır. Olgu rapor formundaki sağlıklı bireyler için gerekli bilgiler eksiksiz doldurulmuştur.

## **2.4. Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Hasta ve kontrol grubundan 4 cc kan EDTA'lı tüpe alındı. Çalışma yapılana kadar -80 °C (Thermo Scientific) de saklandı.

### 2.4.1. Kandan RNA İzolasyonu

#### Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi

- İnvisorb spin blood kit (İNVİTEK)
- Filtreli tüpler
- Receiver tüpleri
- Eppendorf tüpleri
- Red Blood Cell lysis buffer
- Tripure reagent
- Kloroform
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl, Eppendorf)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Vorteks (Heidolph Reaks Top)
- Santrifüj (Sigma 1–15)
- Steril eldiven

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden Red Blood Cell Lysis Buffer (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) kullanılarak eritrositler parçalanır ve lökositler çöktürüldü ;

- 1- 500 ul kan örneği üzerine 1ml Red Blood Cell lysis buffer eklendi.
- 2- 10 dakika oda ısında karıştırıcı cihazı ile alt üst edilerek karıştırıldı.
- 3- 500xg de 5 dakika santrifüj edildi.
- 4- Dikkatli bir şekilde kırmızı renkli süpernatant atıldı.
- 5- Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tüpün dibinde beyaz pellet şeklinde lökositler görüldü.
- 6- Eğer pellette kırmızı renk görünüyorsa ise 1-5 basamaklar tekrarlandı.

#### Eritrositlerin uzaklaştırıldığı örneklerden total RNA izolasyonu

Tripure isolation reagent (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) kullanılarak izole edilmiştir;

1. Tüplere 1 ml tripure eklenir ve tüpler 45 saniye vortekslenir. Böylece tüpteki hücreler homojen bir görünüm alarak parçalandı ve tripure reagent etkisiyle de pembe bir renk görünümünü aldığı izlendi.



2. Vortekslenen tüpler buza alınır ve 2 dakika bekletildi. Vortekste o hızın ve sürenin etkisiyle ısınan tüpleri soğutmak için bu işleme başvuruldu.
  3. 5 dakika oda ısısında bekletildi.
  4. Tüplere 200 ul kloroform eklenir ve 5 dak beklendi.
  - 5.
- Kloroform;** Homojen hale gelen dokuda faz oluşumunu sağladı ve böylece RNA, DNA ve protein ayrıştırıldı.
1. 12.000 rpm' de 4 C ' de 20 dakika santrifüj yapıldı.
  2. Santrifüj sonunda 3 faz oluştu.
- 1.FAZ (Sulu faz): RNA içerir. (Renksizdir.)
- 2.FAZ: DNA içerir. (beyaz renklidir.)
- 3.FAZ (Organik faz): Protein içerir. (kırmızı renktedir.)
3. RNA izolasyonu için renksiz olan 1.faz yeni tüpe aktarıldı.
  4. Yeni tüpe 500 ul izopropanol eklenerek oda ısısında 10 dakika inkube edildi.
  5. Izopropanol RNA' yı DNA ve diğer safsızlıklardan arındırmak için kullanıldı.
  6. 12.000 rpm' de 4 C' de 10 dak santrifüjlenerek süpernatant atıldı.
  7. Oluşan çökelek üzerine 1 ml %75 EtOH eklendi.
  8. 7.500 x g' de 4 C' de 5 dak santrifüjlendi.
  9. Santrifüj sonunda süpernatant atıldı.
  10. 57 C' de EtOH uçuruldu.
  11. Kalan çökeleğe 50-100 ul RNAse free su eklenerek pipetaj yapıldı.

#### **2.4.2. cDNA Elde Edilmesi**

##### **Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi**

- Termal cycler (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9600)
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 0.5 ml'lik ve 1,5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- 0,2 µl lik PCR tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları

- Steril kavanozlar
- Steril eldivenler
- Buz kalıbı
- Kâğıt havlu
- Deiyonize su
- 5x Reaction Buffer
- Spike in RNA
- Enzim mix

cDNA sentezi için Universal cDNA synthesis kit (Exiqon, Woburn, USA) kullanılmalıdır. Her örnek için 5ng/ul RNA stokları hazırlandı ve cDNA’da bu stoklar kullanıldı.

#### Tek Reaksiyon için

RNA örneği (5ng/ul)	4 µl
Nukleaz Free Water	9 µl
5x Reaction Buffer	4 µl
Spike in RNA	1 µl
Enzim mix	2 µl
Toplam	20 µl (bkz tablo-7)

**Tablo-7: Reaksiyonlar için gerekli örnek miktarları**

Reagent	Volume (µL)	
	< 100 microRNA analyzed per sample	> 100 microRNA analyzed per sample
5x Reaction buffer	2	4
Nuclease-free water	4.5	9
Enzyme mix	1	2
Synthetic RNA spike ins, optional replace with H2O if omitted	0.5	1
Template total RNA (5 ng/µL)	2	4
Total volume	10	20

Tüpler thermal cycler a yerleştirilir ve aşağıdaki hazırlanmış program çalıştırıldı.

42°C ‘de	60 dk
95°C’de	5 dk
4°C’de	bekleme



**Şekil-1: PCR aleti (Gene Amp PCR System 9700)**

### **2.4.3. Real-Time PCR (Q-PCR) miRNA ekspresyonu**

#### **Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi**

- Roche LightCycler 480 (LC 480)
- Otomatik pipetler (1–10  $\mu$ l ve 10–100  $\mu$ l)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 0.5 ml'lik ve 1,5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- 0,2  $\mu$ l lik PCR tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Steril kavanozlar
- Steril eldivenler
- Buz kalıbı
- Kâğıt havlu
- Deiyonize su
- Enzim ve dNTP miski (PCR Master mix)( SYBR Gren)
- miRNA Primerler (bkz tablo-8)

Elde edilen cDNA'lar öncelikle 80x dilue edildi (5ul cDNA +395 ul su) ve housekeeping miRNA ve cDNA kontrolü spike in primerleri ile kontrol edildi. Bu çalışmada housekeeping

miRNA olarak Snord48 ve U6 kullanılmıştır. Snord48 ve U6 primerlerini içeren miks aşağıdaki şekilde kullanılmıştır ve yine aşağıda belirtilen protokolle real time PCR’da yürütülmüştür. cDNA’ların Snord48, U6 ve spike in sonuçları Ct değerleri açısından Ct 15-29 arasında olanlar, aşağıda belirtilen mirna’lar için microRNA LNA™ primer setleri (Exiqon, Woburn, USA) kullanılarak ve aşağıdaki miks ve cihaz protokolleri ile çalışılmıştır.

#### **miRNA primerlerinin hazırlanışı;**

miRNA primerleri için liyofilize primer tüplerine 220ul nükleaz yoksun su eklendi ve 20 dakika oda ısında bekletildi. Daha sonra vorteks ve spin edilerek kullanıma hazır hale geldi. Bu primerler 10 ul reaksiyon hacminde 200 reaksiyonluktur.

**Tablo-8 : miRNA Primerleri ve Dizileri**

<b>miRNA</b>	<b>Dizi</b>
hsa-miR-22-3p	aagcugccaguugaagaacugu
hsa-miR-24-3p	uggcucaguucagcaggaacag
hsa-miR-92b-3p	uauugcacucgucccggccucc
hsa-miR-320a	aaaagcuggguugagagggcga
hsa-miR-423-5p	ugaggggcagagagcgagacuuu
hsa-miR-499a-5p	uuaagacuugcagugauguuu

## Cihaz Protokolü;

**Tablo-9 : Cihaz protokolü**

Program	Denaturasyon	Amplifikasyon		Melting			Cooling
Parametre							
Analiz modu	yok	Kuantifikasyon modu		melting			Yok
Döngü	1	45		1			1
Hedef [°C]	95	95	60	95	60	95	40
Süre [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:01:00	00:00:10	00:00:10	0	00:00:30
Ramp.Rate [°C/s]	4.4	4.4	1.6	4.4	1.6	0,2	4.4
Acquisition Mode	Yok	yok	single	yok	yok	continuous	yok

## Miks hazırlanışı;

Tek Reaksiyon için

cDNA	4 µl
Primer miks	1 ul
Enzim ve dNTP miski (PCR Master mix)	5 µl
Toplam	10 µl

Reaksiyon tüpünde, tek bir reaksiyon için reaktiflerin her birinden eklendi ve reaksiyon sayısı kadar konuldu, reaksiyon karışımı hazırlandı.

Karışım spin ettirildi ve plate'lere her bir reaksiyon için 6 µl reaksiyon karışımından transfer edildikten sonra üzerine 4 ul Cdna örnek veya kontrol her bir kapilere son reaksiyon hacmi 10 ul'ye tamamlandı.

Hazırlanan plâtelere (karışım ilave edildikten sonra) 2000 rpm’ de 15 saniye santrifüjlendi. Hazırlanan plâte Roche LightCycler 480 (LC 480) cihazına yüklenerek, sonuçlar elde edildi. (şekil-2)



**Şekil-2: Roche LightCycler 480 (LC 480)**

## **2.5. İstatistiksel Analiz**

Hasta ve kontrol grupları ile hasta grubunun kendi içindeki demografik verilerini karşılaştırmada tanımlayıcı testler kullanıldı. Gruplar arası ve grup içi ortalama değerlerin karşılaştırılması için one way anova testi ve student’s *t*-testi kullanıldı. Kesikli değişkenlerin karşılaştırmasının istatistiksel analizi ki kare testi ile yapıldı. miRNA’ lar ve hastaların klinik değişkenleri arasındaki istatistiksel analizlerde ise student’s *t*-testi ve post hoc analiz testleri kullanıldı.

Elde edilen miRNA sonuçları için relatif kantitasyon yapılabilmesi için  $\Delta/\Delta$  Ct metodu kullanıldı. Bu metod ile miRNA Ct değerleri snord48 ve U6 house keeping genleri ile normalize edildi (bu değer  $\Delta$  Ct olarak geçer) ve gruplar birbirleri ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuç  $\Delta/\Delta$  Ct’yi verdi. Kat değişimleri de  $2^{-\Delta/\Delta Ct}$  değeri üzerinden hesaplandı. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi de student’s *t*-testi kullanılarak yapıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Hasta ve Kontrollerin Karakteristik Özellikleri

Çalışmamızda 47 KY hastası ve 30 kontrol olgusu karşılaştırıldı. Gruplar arasında yaş, vücut kitle indeksi (VKİ) ve beyaz kan hücre sayıları (WBC) açısından anlamlı fark saptanmadı. Kan basıncı (KB), VKİ, ve hemoglobin (HMG) değerleri karşılaştırılırken hastaların çıkışı esnasındaki değerleri dahil edildi. Sistolik KB, diyastolik KB, kreatinin değerleri, HMG miktarları arasında kontrol grubu ile hastalar arasında anlamlı farklılıklar vardı. Sistolik KB ve HMG değerleri kontrol grubunda daha yüksek saptanırken, diyastolik KB, kreatinin değerleri ve WBC sayısı hasta grubunda daha yüksek saptandı. Ortalama LVEF değerleri hasta grubunda %30.4, kontrol grubunda ise %61,4 olarak saptandı. Hasta grubunun 23 (%48) tanesinde RV sistolik disfonksiyonu da mevcuttu. Kontrol grubunun % 56.7' si HT, %36.6' sı DM, %18' i hiperlipidemi (HLP) ve %6.7' si kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) tanıdı. Hasta grubunun ise %44.7' si HT, %61.7' si DM, %74.5' i HLP ve %14.9' u KOA tanıdı. Aralarında eşlik eden bu hastalıklar açısından anlamlı farklılıklar bulunmaktaydı fakat miRNA çalışmalarının genelindeki heterojenite düşünüldüğünde kabul edilebilir düzeyde idi. Daha önceki miRNA çalışmalarında kontrol grupları genel olarak tamamen sağlıklı bireylerden oluşmaktaydı. Bu durum eşlik eden hastalıklardaki farklılıkların yanında yaş konusunda da farklılıklar içermekteydi, fakat bizim çalışmamızda bu durum daha minimal düzeye indirilmeye çalışıldı. Hastalarda ADEi, ARB, beta bloker (BB), furosemit, digoksin ve statin kullanımı kontrol grubuna göre belirgin fazlaydı. (bkz Tablo-10)

Hastaların kendi aralarındaki bazı değişkenleri de karşılaştırıldı. Yatışta hastaların NYHA sınıfı ortalaması 3.52, çıkışta ise 1.63 olarak saptandı. VKİ, ağırlık, KB ve nabız değerleri yatışlarına göre çıkış öncesi durumlarında belirgin azalmıştı. (bkz tablo-11) ACEinh, digoksin, BB ve spironolakton kullanım oranları çıkışta yatışa göre belirgin artmıştı. KY etiyojisi 10 hastada non-iskemik, 37 hastada ise iskemik nedenliydi, diyastolik KY hastalarının sayısı 8, sistolik KY hastalarının sayısı ise 39 tane idi. Hastaların 25 tanesinin yatış ve çıkış NT-proBNP değerleri vardı ve 2 hasta hariç çıkışta tedavi sonrası düzeylerinde gerileme saptandı. Çalışmamız boyunca hasta grubunda 3 (%6.3) kişi hastane içinde, 2 (%4.5) kişi ise bir ay içinde öldü. Ölümün birisi hariç hepsi kardiyojenik kökenli olarak kabul edildi. Diğer ölüm nedeni ise hastane içi enfeksiyon idi. Birinci aydaki sorgulamada 14 (%31,8) hastada KY nedeniyle yeniden hastaneye yatışları olmuştu. Tüm hastaların tedavileri Avrupa Kardiyoloji Derneğinin önerdiği tedavi stratejileri hasta bazlı olarak uygulandı. 2 hastaya KRT implantasyonu yapıldı.

### 3.2. Hasta ve Kontrol Grupları Arasındaki miRNA Düzeyleri

miRNA düzeylerinin normale göre karşılaştırmasında basit sayısal rakamlar yoktur. Değerlendirmeler direkt olarak cihazın saptadığı miRNA ekspresyon miktarına göre yapılmamaktadır. Bu konunun daha iyi anlaşılması için Ct,  $\Delta$ Ct,  $\Delta\Delta$ Ct,  $2^{-\Delta\Delta$ Ct değerlerinin ve house keeping miRNA' ların anlamlarının verşmesi yararlı olacaktır.

- Ct , ham veri siklus eşiği (cycle threshold = Ct) olarak tarif edilen, örneğin o döngüde ulaştığı eşiği gösterir.
- House keeping miRNA, hücrede sabit olarak eksprese edildiği kabul edilen ve hedeflenen miRNA' ları normalize etmek için kullanılan moleküllerdir. Bu çalışmada bu amaçla snord48 ve U6 miRNA' ları kullanılmıştır.
- $\Delta$ Ct , normalize edilmiş Ct değerlerine karşılık gelir. Normalizasyon, house keeping miRNA' lar ile Ct değeri arasındaki fark ile yapılır.
- $\Delta\Delta$ Ct, kontrol grubu ile hasta grubu miRNA ekspresyon değerlerinin ortalama değişimlerini gösterir.

<b>Tablo-10: Hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri</b>			
	<b>KY grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	
	<b>(n = 47)</b>	<b>(n = 30)</b>	<b>p değeri</b>
Yaş (yıl)	61.70	57.13	<b>0.025</b>
Cinsiyet (erkek/kadın)	35 / 17	14 / 16	0.013
VKİ	28.07	27.16	<b>0.137</b>
SKB (mmHg)	112.72	125.46	<b>0.032</b>
DKB (mmHg)	71.36	78.00	<b>0.024</b>
<b><u>Hastalıklar</u></b>			
HT	21 (%44.7)	17 (56.7)	0.214
HLP	35 (%74.5)	18 (%60)	0.139
DM	29 (%61.7)	12 (%40)	0.534
<b><u>İlaç</u></b>			
Beta bloker	39 (%88.6)	4 (%13.3)	<b>&lt;0.001</b>
ACEinh	26 (%59.1)	8 (%26.7)	<b>&lt;0.001</b>
Statin	23 (%52.3)	0 (%0)	<b>&lt;0.001</b>
<i>KY: kalp yetersizliği.</i>			



<b>Tablo-11: Hasta grubunun bazı özellikleri</b>			
	<b>Yatış</b>	<b>Çıkış</b>	<b>p değeri</b>
VKİ	31.66	28.07	<b>&lt;0.001</b>
Ağırlık (kg)	90.66	80.46	<b>&lt;0.001</b>
NYHA sınıfı	3.52	1.63	<b>&lt;0.001</b>
SKB (mmHg)	138.04	112.72	<b>&lt;0.001</b>
DKB (mmHg)	80.72	71.36	0.211
Nabız (dk da)	93.38	79.68	0.016

➤  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  = kat ifadesi, kontrol grubu ile hasta grubu miRNA ekspresyon değerlerinin birbirlerine göre kat değişimini verir. Genel görüş olarak 2 katından fazla değişim gösteren miRNA anlamlı kabul edilir. Şimdiye kadarki tüm çalışmalar bu değerler üzerinden değerlendirme yapılarak sonuçlandırılmıştır. Bizim çalışmamızda da 2 kat ve üzeri değişim (artma veya azalma şeklinde) gösteren miRNA' lar anlamlı kabul edilmiştir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarında, miR-22 düzeylerinin, hastaların yatışlarında (dekompanse halde) kontrollere göre 2.33 kat (-2.33), çıkışlarında (kompanse halde) ise 1.23 kat (-1.23) azaldığı ve kontrol grubuna yaklaştığı saptandı. Yatış ve çıkıştaki fark da 1.95 kat olarak saptanarak anlamlı kabul edildi. Aynı şekilde miR-24 düzeyleri yatışta 2.07 kat (-2.07), çıkışta 1.59 kat (-1.59) azalarak çıkışta kontrol grubu değerlerine yaklaştı. miR-24' ün yatış çıkış arası farkı da 1.3 kat idi. miR-320a düzeyindeki azalma yatışta 1.56 kat (-1.56), çıkışta da 1.46 kat (-1.46) olarak saptandı ve kontrollere yaklaşma eğiliminde idi. Yatış çıkış arasında ise anlamlı fark yoktu.

miR-92b düzeylerinde ise kontrollere göre hem yatışta hem de çıkışta artış gözlemlendi. Artış miktarı yatışta 2.33 kat (+2.33), çıkışta ise 3 kat (+3) idi. Çıkıştaki artış kontrollere göre daha da belirginleşti ve aralarında 1.29 kat fark saptandı.

miR-423-5p düzeyindeki değişiklik ise daha farklı bulundu. Yatışta kontrollere göre 1.16 kat (-1.16) azalma, çıkışta kontrollere göre 1.3 kat (+1.3) artış oldu. Yatış ve çıkış

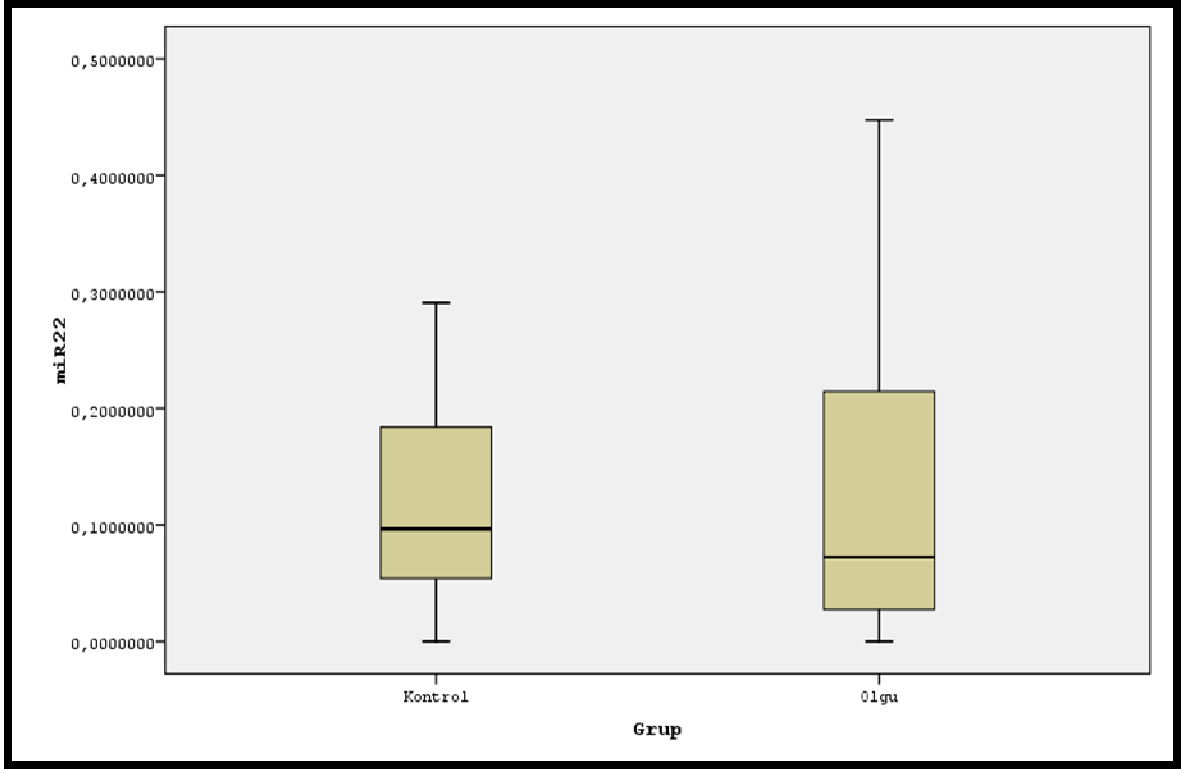
değerlerinin kendi aralarındaki fark ise 1.51 kat olarak saptandı. miR-499 değerleri ise miRNA kitinin primerindeki hatalı sonuçlar nedeniyle değerlendirilemedi. (bkz tablo-12)

<b>Tablo-12: miRNA ekspresyon farkları</b>			
	<b>Normale göre yatişta</b>	<b>Normale göre çıkışta</b>	<b>p değeri</b>
miR- 22	- 2.39	- 1.23	<b>&lt;0.05</b>
miR- 24	- 2.07	- 1.59	<b>&lt;0.05</b>
miR- 92b	+ 2.33	+ 3	<b>&lt;0.05</b>
miR- 320a	- 1.56	- 1.46	>0.05
miR- 423-5p	- 1.16	+ 1.30	>0.05
miR- 499	---	---	---

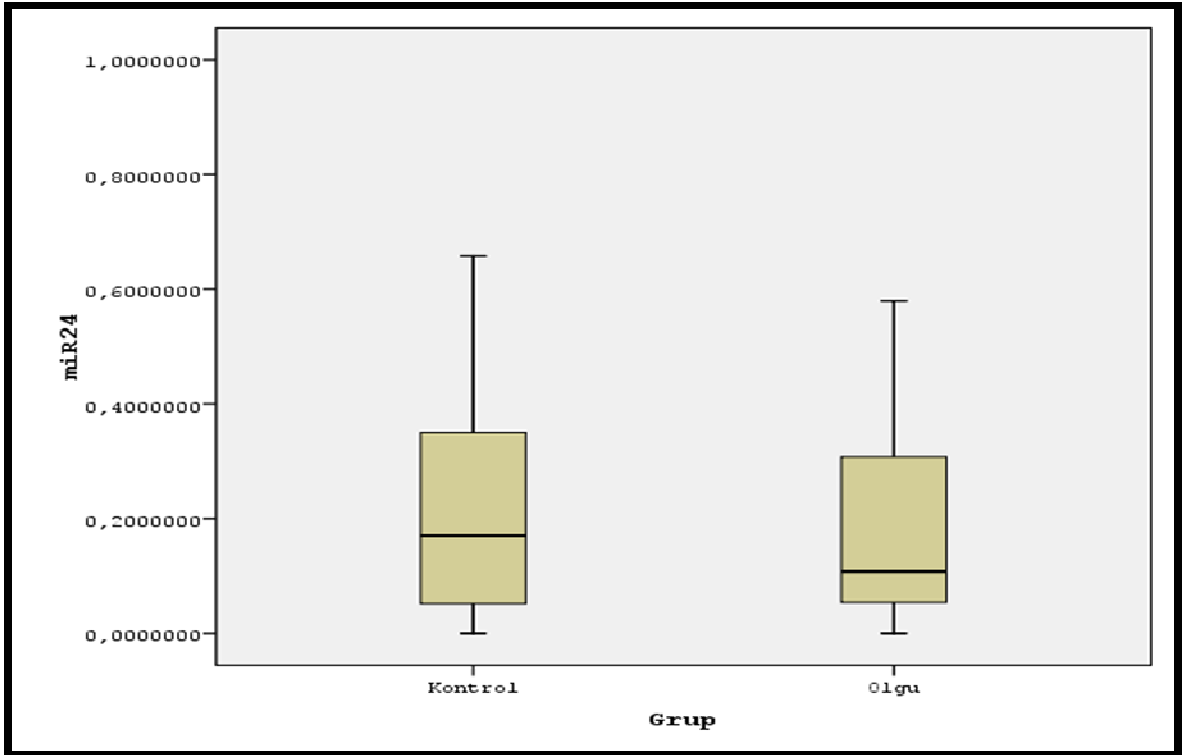
### **3.3. miRNA Düzeyleri İle Klinik Veriler Arasındaki İlişki**

miRNA düzeylerinin ifadesi genel olarak kat değişimi hesaplaması yapılarak verilir. İstatistiksel analizlerde bu değişim kullanılmadığı, ve çalışmamızdaki kısıtlılıklar nedeniyle miRNA kat değişimlerine sayısal değer verilme işlemi gerçekleştirilemediği için  $\Delta Ct$  değerleri üzerinden analizler yapıldı. Student's t-testi kullanılarak bu değer üzerinden yapılan analizde kontrol grubu ve hasta gruplarının  $\Delta Ct$  değerleri arasında istatistiksel anlamlı değerler saptanamadı. Fakat kat değişimleri ile korelasyon gösteren değerler elde edildi. (bkz şekil 3, 4, 5, 6)

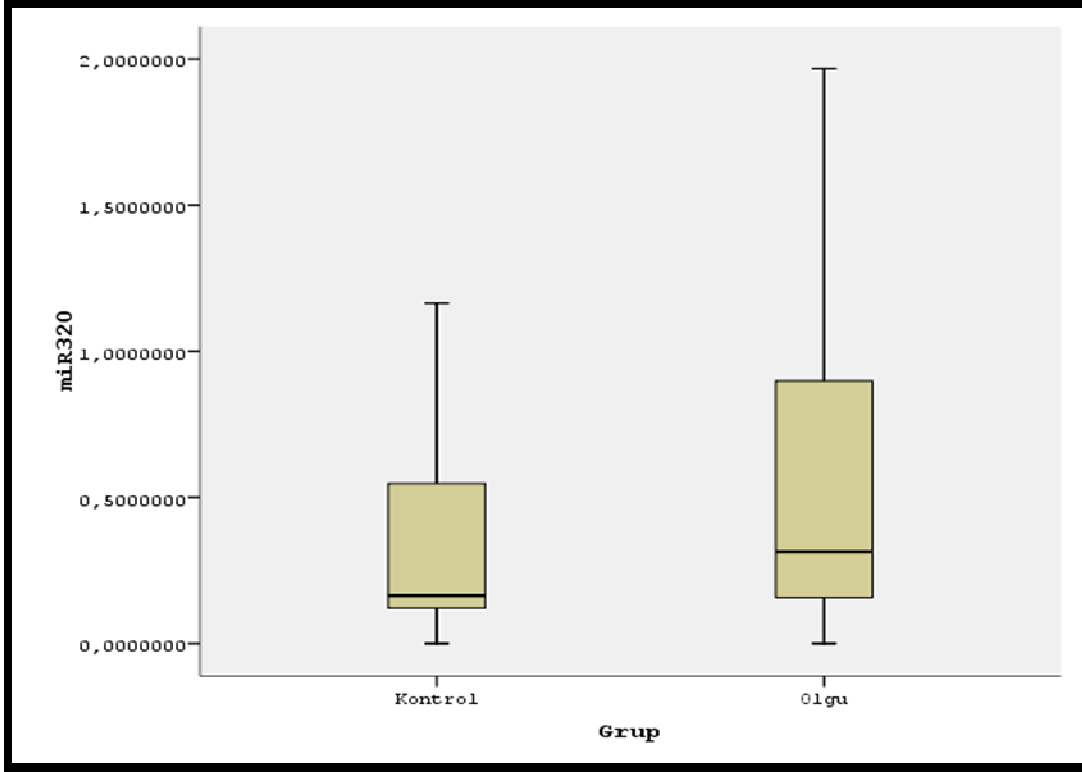
Hasta grubunda miRNA düzeylerinin KY çeşidine (diyastolik, sistolik KY), KY etiyojisine, %35 üstü ve altındaki LVEF değerlerine, RV sistolik disfonksiyonu varlığına-yokluğuna, cinsiyete ve eşlik eden DM' ye göre değişimleri  $\Delta Ct$  değerlerine göre analiz edildi fakat anlamlı farklılık saptanmadı. Ayrıca NYHA sınıfı, mortalite, morbidite ve rehospitalizasyon açısından da analiz yapıldı fakat anlamlı sonuç yoktu. NP değerleri ile korelasyonda analiz edilmeye çalışıldı ve yine anlamlı sonuç elde edilemedi. Değerlendirmedeki bu kısıtlılıklar sayısal değer yokluğuna bağlandı.



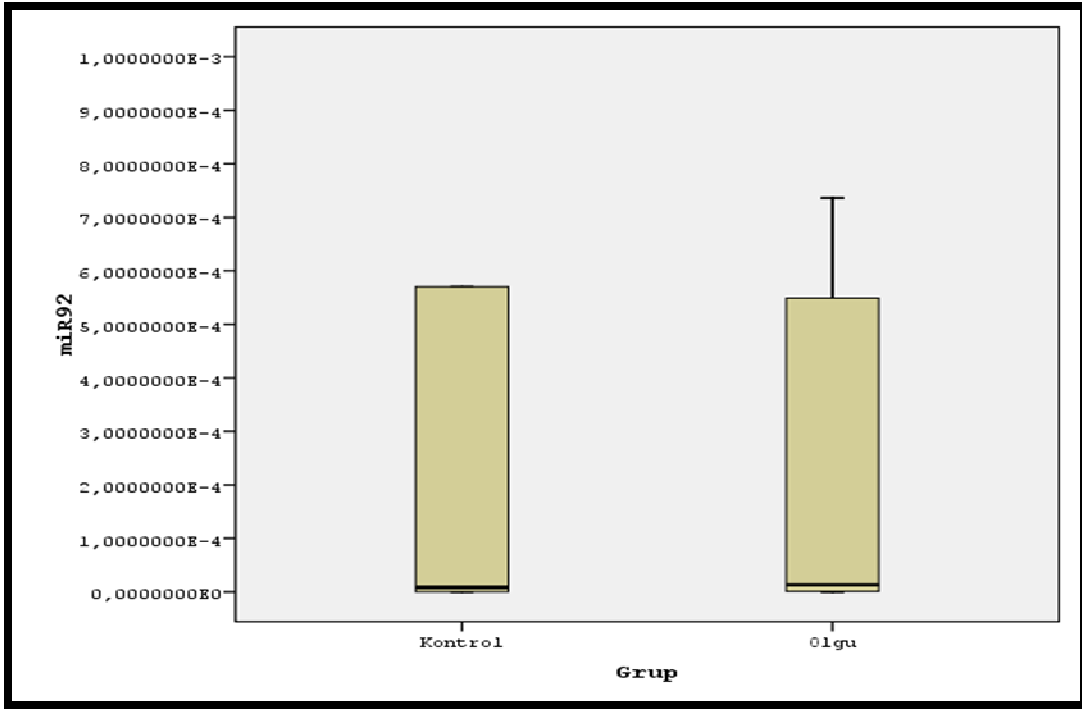
Şekil- 3 : miR-22 düzeylerinin  $\Delta Ct$  değerleri üzerinden karşılaştırılması (miR-22: mikro RNA-22)



Şekil- 4 : miR-24 düzeylerinin  $\Delta Ct$  değerleri üzerinden karşılaştırılması (miR-24: mikro RNA-24)



Şekil- 5 : miR-320 düzeylerinin  $\Delta Ct$  değerleri üzerinden karşılaştırılması (miR-320: mikro RNA-320)



Şekil- 6 : miR-423-5p düzeylerinin  $\Delta Ct$  değerleri üzerinden karşılaştırılması (miR-423-5p: mikro RNA-423-5p)

## 4. TARTIŞMA

KY hastalarında tanı, tedavi ve prognoz tahmini gibi konularda yaygın kullanımı olan BNP ve türevleri haricinde kullanılabilirliği ciddi kanıtlarla ispatlanmış biyobelirteç yoktur. Bu konuda eskiden beri arayışlar devam edegelmiş ve hala da araştırmalar devam etmektedir. En yeni sayılabilecek moleküllerden birisi de miRNA' lardır, fakat mevcut konumunda bu konuda aday aday demek daha makul gibi görünmektedir.

Bizim çalışmamızda periferik kandaki miR-22, miR-24, miR92b, miR-320a ve miR-423-5p moleküllerinin KY hastaları ve normal bireyler arasındaki hücresel ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir.

### **miR-22**

miR-22 düzeyi, KY hastalarının hem dekompanse halinde hem de kompanse halinde kontrole göre sırasıyla, 2.39 kat (-2.39) ve 1.23 kat (-1.23) düşük saptandı. Kontrole göre azalmanın yanında, hastaların kompanse halde çıkışları sırasında normal bireylerin düzeyine yaklaştı. Thum ve arkadaşlarının KY hastalarında bazı fetal genlerin reaktive olup olmadığının araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada, son dönem KY hastaları ile sağlıklı insanların LV miyokard dokusundan ve gestasyonel yaşı 12–14 hafta arasındaki miyokard dokusundan elde edilen miyositleri kullanarak oluşturdukları hücre kültüründe miRNA farklılıkları karşılaştırılması sonucunda, fetal hayatta eksprese edilen bazı miRNA' ların yetmezlikli dokularda da fazla eksprese edildiği saptanmıştı. miR-22' nin, bu çalışmada bizim verilerimizle benzer olarak KY hastalarında sağlıklı kontrollere göre 1.71 kat (-1.71) azalmış ekspresyonu bildirildi (184). Sucharov ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada miR-22 düzeyi KY hastalarında normal bireylere göre yine 1,4 kat (-1,4) azalmış olarak bulunmuştu (185). Bu çalışmaların yanında farklı sonuçları olan iki çalışmadan birincisinde İkeda ve arkadaşları doku spesifik bir çalışma ile normal bireylere göre yetmezlikli hastalarda miR-22 düzeylerindeki yaklaşık 1 kat (+1) artış anlamlı kabul edilmemişti (186). İkinci çalışma ise Matkovitch ve arkadaşlarının yine doku düzeyinde kalp destek cihazı implante edilmiş hastalar, son dönem KY hastaları ve normal bireylerdeki miRNA karşılaştırılması çalışması idi. Bu çalışmada miR-22 KY hastalarında kontrole göre 10,3 kat artmış olarak saptanmıştı (180). Matkovitch ve İkeda grupları ile Thum, Sucharov grupları ve bizim çalışmamız arasındaki farklılık, hastaların diğer özelliklerinin farklılıklarından kaynaklanmış olabilir. Bu çalışmalardan bazılarında, hastaların NYHA

sınıfları, hangi tedavi altında oldukları, daha önceden KRT cihaz implantasyonu varlığı veya yokluğu, yaş aralıkları ve eşlik eden hastalıkları ayrıntılı bahsedilmemişti. KY' de kullanılan BB' lerin ve KRT tedavisinin, mRNA ekspresyonunu değiştirdiği daha önce gösterilmişti (187, 188). Ayrıca yaş ile birlikte bazı miRNA' ların düzeylerinin değişiklik gösterdiği bir çalışmada belirtilmişti (182). Bahsedilen bu değişkenler çalışmalardaki farklılıkların sebebi olabilir. Ravi Ramani ve arkadaşlarının doku spesifik olarak yaptığı diğer bir çalışmada, destek cihazı takılan ve takipte toparlanma sonucu çıkarılan hastaların ve sağlıklı kontrollerin bulunduğu grupların olduğu bir çalışma gerçekleştirildi. Bu çalışmada, anlamlı bulunan miRNA' lar arasında bizim çalışmamızda değerlendirdiğimiz miRNA' lar yoktu. Fakat diğer yandan Matkovitch ve Thum grubuna ait bazı verilerle de çelişmekteydi (189). Yine burada bir başka sebep, hasta popülasyonlarının farklarından kaynaklanmış olabilir. Tijsen ve arkadaşları ve Goren ve arkadaşlarının yaptığı plazma kaynaklı çalışmada ise miR-22 düzeyinde anlamlı denilebilecek değişimler saptanmamıştı (181, 183). Tüm bahsedilenlerle birlikte, serum ve/veya plazmadan elde edilen miRNA' lar dokuyu, periferik kandaki çekirdekli hücrelerden elde edilen (bizim çalışmamızda lökositler) miRNA' lar kadar yansıtmıyor olabilir. Son olarak, okuyucular açısından da sonuçların yorumlanmasında miR-22' nin KY patofizyolojisindeki yerini belirtmenin faydalı olacağını düşündük. 2012 yılında yayınlanan, Gurha P ve arkadaşlarının çalışmasında miR-22' si defektli olan ve miR-22' si tamamen çıkarılmış fare modeli oluşturulmuş ve kardiyak hemodinamik strese cevabı, miR-22 sağlam olan grupla karşılaştırılmıştı. Sonuçta defektli grupta dobutamin ile oluşturulan akut strese yetersiz inotropik ve lusitropik cevap gösterilmişti. miR-22' si olmayan grupta da, transaortik daraltma (trans aortic constriction = TAC) ile oluşturulan uzun süreli hemodinamik stres ile kardiyak dekompanse ve ventriküler dilatasyon gözlenmişti. Moleküler düzeyde ise miR-22 ablasyonu yapılmış farelerde SERCA2 (sarkoplazmik retikulum  $Ca^{+2}$ ) geninin aktivitesinde ve miktarında azalma saptanmıştı ve bu molekülün KY patofizyolojisindeki rolü de bilinmektedir. Bu arada TAC yapılan miR-22 genine dokunulmayan farelerde ilk evrelerde (1. hafta) geçici bir miR-22 yükselmesi saptanmış, fakat bu artış ilerleyen zamanlarda (4. hafta) gözlenmemiştir hatta azalmıştır (190, 191). Tüm bu sonuçlar miR-22 nin kardiyak strese cevapta rolü olduğunu, KY ve kardiyak stresin evrelerinde düzeyinin değiştiği söylenebilir. Böylelikle bizim çalışmamızı destekleyen ve desteklemeyen çalışmalar arasındaki farkın sebeplerinden biri bu durum olabilir. Bizim çalışmamızdaki, KY hastalarının dekompanse hali ve kompanse hali arasındaki miR-22

değişimi (normale yaklaşması) tedaviye yanıt açısından ilerki çalışmalarda araştırılmaya değer bir fark olabilir.

### **miR-24**

miR-24 düzeyi bizim çalışmamızda, KY hastalarının hem dekompanse halinde hem de kompanse halinde kontrole göre sırasıyla, 2.07 kat (-2.07) ve 1.59 kat (-1.59) düşük saptandı. miR-22' ye benzer şekilde, kontrole göre azalmanın yanında, hastaların kompanse halde çıkışları sırasında normal bireylerin düzeyine yaklaştı. Van Roji ve arkadaşlarının, fare ve in vitro ortamdaki yetişkin miyositleri kullanarak, kardiyak strese miRNA cevabının araştırdığı çalışmasında ve Matkovitch gurubunun çalışmasında, miR-24 miktarları normale göre sırasıyla, 1.5 kat (+1.5) ve 6.3 kat (+6.3) arttığı saptanmıştır (180, 192). İkeda gurubunun verilerinde ise, miR-22' ye ait anlamlı bir sonuç saptanmamıştı (186). Çalışmamızdaki verilerle, miR-24 konusunda korelasyon gösteren çalışmalar; Thum, Sucharov ve Goren gruplarının çalışmaları idi. Bu çalışmalarda, miR-24 düzeyinde yetmezlikli dokularda normale göre sırasıyla, 1.71 kat (-1.71), 1.4 kat (-1.4) ve 1.17 kat (-1.17) azalma saptanmıştı (183-185). Tijssen gurubuna göre de, miR-24 yüksek saptanmıştır, fakat orada belirtilen molekülün miR-24-2 olduğu ve bu molekülün proapoptotik meme kanserinde de çalışıldığı ve rolü olduğu düşünüldüğünde, anlamlı kabul etmek güç görünmektedir. Zaten Tijssen gurubunun da bu konuda bir iddiası yoktu (181). Çoğu çalışma ile de gösterilmiştir ki; kardiyak patofizyolojide rolü olan daha çok miR-24' dür (193-199).

### **miR-92b**

miR-92b düzeyi, bizim çalışmamızda KY hastalarının hem dekompanse halinde hem de kompanse halinde kontrole göre sırasıyla, 2.33 kat (+2.33) ve 3.0 kat (+3.0) yüksek saptandı. Benzer olarak, Goren ve Tijssen gruplarının çalışmalarına göre de sırasıyla, 1.3 kat (+1.3) ve 0.85 kat (+0.85) artış saptanmıştı (181, 183). KY konusunda literatür tarandığında, miR-92b ile ilgili patofizyolojik veya klinik olarak net verilere rastlayamadık. Normalde, Bonauer ve arkadaşlarının yaptığı fare modeli çalışmasında, miR-92a' nın artmasının anjiogenezi bloke ettiği ve miR-92b' nin de bu yolda etkili olduğu belirtilmişti. Bu önerme ile, çalışmada değişik aşamalar ve modeller oluşturularak antogomiR-92a' nın etkileri araştırılmıştı. Ekstremitelerinde iskemik yaralanma modeli oluşturulan farelere antogomiR-92a verildiğinde, anjiyogenezin arttığı saptanmıştı. Ayrıca, aynı çalışmadaki deneysel kalp krizi

modelinde ise, antogomiR-92a uygulanan farelerde enfarkt alanında anlamlı gerileme izlenmişti (p: 0.05). AntogomiR-92a verilmesi sonrası miR-92a yanında, yakın ilişkili olduğu miR-92b düzeyi üzerine etkileri de araştırılmış ve miR-92a' da belirgin azalma, miR-92b' de ise daha az bir azalma saptanmıştı (200). Taurino ve arkadaşlarının yaptığı çalışma olmasaydı, bu sonuçlarla miR-92 ailesinin artışının anjiyogenez üzerinden kardiyovasküler hastalıklarda negatif etkileri olduğu kanısı çıkabilirdi. Fakat, Taurino gurubunun verileri bu önermenin tersine sonuçlar ortaya çıkarmıştı. Bu çalışmaya elektif olarak yapılan koroner arter baypas cerrahisi (KABG) sonrası kardiyak rehabilitasyon (egzersiz) gurubuna alınan hastalar dahil edilmişti. Rehabilitasyon öncesi ve sonrasında, hedef genler ve miR-92a ve 92b' yi de içeren bazı miR' lerin düzeyleri karşılaştırılmıştı. Seçilen hedef genlerden olan CASP3' ün, rehabilitasyon öncesi düzeylerine göre, rehabilitasyon sonrası düzeylerinde anlamlı olarak azalma saptanmıştı. Bu azalmanın sebebi olarak ise rehabilitasyon sonrası miR-92a ve 92b düzeylerinin anlamlı düzeyde artması gösterilmişti. CASP3 geni apoptozisin yürütücülerinden olduğundan, azalması ile miyosit ölümünü de azaltır demek yanlış olmayacaktır (201). Farklı olan bu sonuçların sebebi, miRNA' ların herbirinin birçok hedef genin düzeyini etkilemesine bağlı olabilir. Bizim çalışmamızdaki miR-92b düzeylerinin kontrole göre dekompanse hastalarda yüksek saptanması ve kompensasyon sonrası daha da artması olası bir iyileşme mekanizmasının aktivasyonunu veya fonksiyon artışını gösteriyor olabilir. Hastalara verilmiş olan uygun KY tedavisi, miR-92b düzeylerini arttırarak, CASP3 geni dahil birçok gen üzerinden hücre ölümünün engellenmesini veya daha farklı yararlı etkileri ortaya çıkarmış olabilir. Fakat bu çıkarımları net ifade etmek şu anki verilerle mümkün değildir. Yapılacak yeni çalışmalarla, daha değişik hedef genler ortaya çıktıkça bu ailenin patofizyolojik rolü de daha iyi anlaşılacaktır.

### **miR-320a**

miR-320a bizim çalışmamızda, KY hastalarının hem dekompanse halinde, hem de kompanse halinde kontrole göre sırasıyla 1.56 kat (-1.56) ve 1.46 kat (-1.46) düşük saptandı. Hastaların kompanse hallerinde saptanan miR-320a düzeyi normale yaklaşmaktaydı fakat istatistiksel olarak anlamı yoktu. Şimdiye kadar miR-320 ailesi ile ilgili en kapsamlı veri Ren XP ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan elde edilmiştir. Bu çalışma iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı modeli oluşturulan fareler üzerinde yapılmıştır. İ/R hasarı ile hem in vivo hemde ex vivo olarak miR-320 düzeyleri düşük saptanmıştır. Kültürde üretilen yetişkin fare



miyositlerinde miR-320' nin fazla ekspresyonu miyosit ölümü ve apoptoziste artışa sebep olurken, miR-320 geni ekspresyonu azaltıldığında (knockdown), hücre koruyucu etki sağladığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada, in vivo olarak antogomiR-320 ile tedavinin enfarkt alanını geriletmediği saptanmıştır. miR320 ailesinin kardiyak koruyucu etkisine aracılık eden gen hedeflerinden birisi de, bu çalışmaya göre HSP20 (ısı şok proteini 20) proteindir (202). Ikeda gurubunun çalışmasında da, miR-320 ailesine ait veri vardır fakat, normal bireylere göre artış göstermesine karşın bu değişim anlamlı kabul edilmemiştir (186). Goren gurubunun verileri de Ikeda ve arkadaşlarını destekler niteliktedir fakat, normal bireylere göre miR-320a artışı sadece, 1.2 kat olarak saptanmıştır (183). Fakat bu değer genel olarak miRNA çalışmalarında anlamlı kabul edilmemektedir. Tüm sonuçlarla kendi sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda, sonuçlarımızın hayvan deneyi de olsa patofizyolojik kanıtlar içeren Ren gurubunun verileri ile örtüştüğünü düşündük. miR-320 ailesinin düzeylerinin kardiyak hasar sonrası azalıyor olması bir savunma mekanizması da olabilir. Gelecekteki hedef gen çalışmaları bu soru işaretlerine açıklık getirecektir diye düşünüyoruz.

### **miR-423-5p**

Çalışmamızda miR-423-5p' nin, KY hastalarının dekompanse halinde kontrole göre 1.16 kat (-1.16) azaldığı, kompanse hallerinde ise normale göre 1,3 kat arttığı (+1.3) saptandı. Dekompansasyon ve kompanse zamanları arasında ise 1.51 kat değişim vardı ve bu durum anlamlı kabul edilebilir. En bilinen çalışmalardan olan Tijssen ve arkadaşlarının çalışmasında, miR-423-5p düzeyinde normal guruba göre anlamlı artış saptanmıştı. Bu çalışmada KY, kardiyak dışı nefes darlığı hastaları ve normal bireylerden oluşan gruplar oluşturularak mikroarray yöntemi ile plazmadan birçok miRNA çalışılmış ve en anlamlı sonuç miR-423-5p' de saptanmıştı. EF ve pro-BNP değerleri ile korele değerler bulunmuş ve KY hastalarını, normal ve kardiyak dışı nefes darlığı gruplarından ayırabildiği belirtilerek, özgüllüğü yüksek bir test olabileceği ileri sürülmüştü. Bu çalışmanın öncesinde ve sonrasında yapılan çalışmalarla da KY hastalarında, miR-423-5p artışını desteklenmektedir (183, 184, 203). Ancak, desteleyici bulgular saptayan Thomas Thum' un da aralarında bulunduğu bir grup yazar, örneklem büyüklüğünün yetersizliğini, kullanılan istatistiksel yöntemin uygun olmamasını ve kontrol grubu ile hastalar arasındaki yaş uyumsuzluğunu öne sürerek, net olarak bir biyobelirteç olabilir görüşünü iddialı bulmuşlardır (editöre mektup). Fukushima ve arkadaşlarının çalışmasında da, Tijssen gurubunu sonucunun kendi çalışmalarında ispat

edilemediği özellikle vurgulanmıştır (182). Bizim çalışmamız ise, rastladığımız hiçbir çalışma ile korele bulunmadı. Bu farklılık, hasta popülasyonlarının, çalışma dizaynlarının, miRNA izolasyon materyallerinin ve ek birçok faktörün farklılığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca şu ana kadar miR-423-5p' nin kardiyak hastalıklarda patofizyolojisi net olmadığından, ortaya çıkan değişik sonuçlar konusunda doğru veya yanlış şeklinde yorumlar yapmak mümkün değildir.

### **Özet Sonuç**

Çalışmanın başlığından ve ileri sürülen hipotezlerden de anlaşılacağı üzere literatürdeki güçlü kanıtları ve kardiyak patofizyoloji ile yakın ilişkileri saptanmış olan hedef miRNA' larımızın kalp yetmezliğinin tanı, tedavi ve prognoz aşamalarında yerinin araştırılmasını planlamıştık. Fakat miRNA' ların izolasyonundaki karmaşıklıklar, standardizasyonun net olmaması ve özellikle klinik verilerle bağlantının istatistik analizinde kullanılacak sayısal verilerin olmaması belirttiğimiz aşamalarda biyobelirteç yorumu yapmamızı kısıtladı. Ayrıca şu anki gelinen noktada miRNA konusunda çok fazla çelişkili veriler olmasından dolayı sayısal veri olsa da hedefimize ulaşamayabilirdik. Fakat özellikle miR-22, miR-24 ve miR-92b ile ilgili saptadığımız kat değişimlerinin, çoğu çalışma sonuçları ile örtüşmesi ve patofizyolojik modellerin belirttiği cevap şekline uymasından dolayı literatüre katkı sağlayacak veriler olduğunu düşündük.

miR-22, miR-24 ve miR-92b düzeylerindeki anlamlı değişimlerin, tedaviye cevabın ve/veya bir savunma aracı olarak hastanın akut olaya geliştirdiği bir mekanizmanın göstergesi olabileceğini düşünüyoruz. Biyobelirteç olabilir mi? Gözüyle bakıldığında ise tekniklerin ilerlemesi ile birlikte daha net sayısal değerler ile bu miRNA' lar tedaviye cevabı ve prognozu göstermede anlamlı olabilirler hatta tanı konusunda da kullanılabilirler.

### **KISITLILIKLAR**

Çalışmamızda gruplar arasında bazı bazal karakteristik özellikleri açısından farklılıklar bulunmaktaydı. Ayrıca hasta sayımızın az olması da diğer bir kısıtlayıcı faktördü. miRNA düzeyleri ile klinik değişkenler arasında analiz yapılmasında kat değişiminden başka, düzeylere ayrı ayrı karşılık gelecek sayısal değerlerin olmayışı da çalışmamızı kısıtlamıştır.

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Son yıllarda kalp yetersizliğinin tanı, tedavi ve prognoz aşamalarında biyobelirteç arayışları sürmektedir. Klinik pratikte kullanımı yaygın olarak kullanılan BNP ve türevlerinin obezite, yaş, böbrek fonksiyonları ve ek bazı komorbiditelerden etkilenebildiğinden özellikle tanı aşamasında yanıltıcı sonuçlar verebilmektedir. Adı geçen en yeni moleküllerden olan miRNA (mikroribonükleik asit)' ların KY' de biyobelirteç olarak kullanılabilceği öne sürülmektedir. Çalışmamızın amacı belirlenen miR-22, miR-24, miR-92b, miR-320a, miR-423-5p ve miR-499 moleküllerinin düzeylerinin akut dekompanse KY hastalarında tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin KY olmayan kontrollerle karşılaştırılmasıdır.

**Metod:** Gözlemsel prospektif çalışmaya akut KY tanısı ile yatırılan 47 hasta ve 30 kontrol olmak üzere toplam 77 gönüllü dahil edildi. Hastalardan yatışta ve tedavi sonrası çıkışta olmak üzere 2 kez, kontrollerden ise 1 kez venöz kan alınarak -80 selsiyus derecede saklandı. Periferik kan hücrelerinden (lökositler) belirlenen miRNA' ların PCR yöntemi ile düzeyleri hesaplandı. İstatistiksel analizlerde one way anova, student's *t*, ki-kare ve post hoc analiz testleri kullanıldı. Gruplar arasında ve KY grubu içindeki miRNA farkları kat değişimi ( $2^{-\Delta/\Delta C_t}$  değeri kullanıldı) olarak ifade edildi.

**Bulgular:** Hasta ve kontrol gruplarında yaş, cinsiyet ve kullanılan ilaçlar açısından farklılıklar bulunmaktaydı. miR-22 düzeylerinin, hastaların yatışlarında (dekompanse halde) kontrollere göre 2.33 kat (-2.33), çıkışlarında (kompanse halde) ise 1.23 kat (-1.23) azaldığı ve kontrol grubuna yaklaştığı saptandı. miR-24 düzeyleri yatışta 2.07 kat (-2.07), çıkışta 1.59 kat (-1.59) azalarak çıkışta kontrol grubu değerlerine yaklaştı. miR-320a düzeyindeki azalma yatışta 1.56 kat (-1.56), çıkışta da 1.46 kat (-1.46) olarak saptandı ve kontrollere yaklaşma eğiliminde idi. miR-92b düzeylerinde ise kontrollere göre hem yatışta hem de çıkışta artış gözlemlendi. Artış miktarı yatışta 2.33 kat (+2.33), çıkışta ise 3 kat (+3) idi. miR-423-5p düzeyindeki değişiklik ise daha farklı bulundu. Yatışta kontrollere göre 1.16 kat (-1.16) azalma, çıkışta kontrollere göre 1.3 kat (+1.3) artış oldu. miR-499 molekülü kullanılan kitin primerindeki problem nedeniyle değerlendirilemedi.

**Sonuç:** Çalışmamızda miR-22, 24 ve 92b düzeylerinde hasta ve kontroller arasında kat değişimi olarak anlamlı sonuçlar saptanmıştır. Aynı moleküller hastalarda, tedavi öncesi ve sonrasında da farklılıklar göstermiştir. miR-423-5p ve 320a düzeylerindeki farklılıklar anlamlı değildi.

**Anahtar Kelimeler:** kalp yetersizliği, miR-22, miR-24, miR-92b, miR-320a, miR-423-5p, miR-499

## SUMMARY

**Introduction and aim:** In recent years, there has been researches for biomarkers for heart failure (HF) diagnosis, treatment and prognosis. BNP and its derivatives are widely used in clinical practice, but the results can be affected by obesity, age, gender, renal functions and some additional comorbidities, especially causing false results during diagnosis. One of the newest molecule, miRNA (micro ribonucleic acid) is proposed as a new biomarker in heart failure. The aim of this study was to compare the molecule levels of miR-22, miR-24, miR-92b, miR-320a, miR-423-5p and miR-499 in acute decompensated HF patients before and after treatment with the controls who do not have HF.

**Method:** Total of 77 volunteers were included in this observational prospective study, consisting of 47 patients hospitalized with the diagnosis of acute HF and 30 controls. Venous blood was withdrawn from patients two times, first at hospitalization and second after treatment before discharge and only once from the controls. The collected blood samples were kept at -80 Celsius. The levels of mRNA detected from peripheral blood cells (leukocytes) were calculated using the method PCR. For statistical analysis one-way ANOVA, student's t, chi-square test and post hoc analysis were used. Between groups and within the group of HF miRNA differences were expressed as fold change ( $2^{-\Delta/\Delta Ct}$  value was used).

**Results:** There were differences in terms of age sex and type of drugs being used between patients and control group. The miR-22 levels compared with the control group, decreased 2.33 fold (-2.33) at admission (decompensated) and 1.23 fold (-1.23) at discharge (compensated), resulting in closer levels to the control group. The miR-24 levels decreased 2.07 fold (-2.07) at admission and 1.59 fold (-1.59) at discharge, resulting in closer levels to the control group. Reduction in the level of miR-320 was 1.56 fold (-1.56) at admission and 1.46 fold (-1.46) at discharge and tended to approach levels of the controls. The miR-92 levels were increased both at admission and at discharge compared with the controls. The amount of increase was 2.33 fold (+2.33) at admission and 3 folds (+3) at discharge. Changes in the level of miR-423-5p were different. A decrease of 1.16 fold (-1.16) at admission and an increase of 1.3 fold (+1.3) at discharge was detected compared to the controls. miR-499 molecule levels were not evaluated due to the primary problems of the kit used.

**Conclusion:** In our study, there were significant changes in the levels of miR-22, 24 and 92b as fold changes between patients and the controls. Same molecules also showed differences in patients before treatment and after treatment. The differences of the levels of miR-423-5p and 320a were not significant.

**Key words:** heart failure, miR-22, miR-24, miR-92b, miR-320a, miR-423-5p, miR-499

## KAYNAKLAR

1. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail* 2008;10:933–989.
2. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal* (2012) 33, 1787–1847.
3. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J* 2011;32:670–679.
4. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:2539–2550.
5. Linzbach AJ. Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol* 1960; 5: 370-382.
6. Katz AM. Cellular mechanisms in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1988; 62: 3A- 8A.
7. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac intesititium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosteron system. *Circulation* 1991; 83: 1849-1865.
8. Chen QM, Tu VC. Apoptosis and heart failure: mechanisms and therapeutic implications. *Am J Cardivasc Drugs* 2002; 2: 43-57.
9. Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of heart failure. *Am J Cardiol* 1997; 80: 15L-25L.
10. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, et al. Apoptosis in the falling human heart. *N Engl J Med* 1997; 336: 1131-1141

11. Jessup M, Abraham WT, Casey DE, Feldman AM, et al. 2009 Focused Update Incorporated Into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2009;119:e391-e479.
12. Sanderson JE, Tse TF. Heart Failure: a global disease requiring a global response *Heart* 2003; 89: 585-6.
13. Mair FS, Crowley TS, Bundred PE. Prevalence, aetiology and management of heart failure in general practice. *Br J Gen Pract* 1996;46:77-9.
14. Campell DJ. Heart failure: how can we prevent the epidemic? *Med J Aust* 2003;179:422-5.
15. Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, et al. The epidemiology of the heart failure. *Eur Heart J* 1997;18:208-25.
16. Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure. *Heart Fail Rev* 2000;5:167-73
17. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart* 2007;93:1137–1146.
18. Değertekin M, Erol Ç, Ergene O, Toksözoğlu L, et al. Heart failure prevalence and predictors in Turkey: HAPPY study. *Arch Turk Soc Cardiol* 2012;40(4):298-308.
19. Bertoni AG, Hundley WG, Massing MW, Bonds DE, Burke GL, Goff DC Jr. Heart failure prevalence, incidence and mortality in elderly with diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:699-703.
20. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO, Romero-Corral A. Body composition and heart failure prevalence and prognosis: getting to the fat of the matter in the 'obesity paradox'. *Mayo Clin Proc* 2010;85:605-8.
21. Baena-Diez JM, Byram AO, Grau M, Gomez-Fernandez C, Vidal-Solsona M, Ledesma-Ulloa G, et al. Obesity is an independent risk factor for heart failure: Zona Franca Cohort study. *Clin Cardiol* 2010;33:760-4.
22. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm* 2011;8:1308–1339.
23. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979;44: 503-512.

24. Spadaro J, Fishbein MC, Hare C, Pfeffer MA, Maroko PR. Characterisation of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med* 1980; 104:179-183
25. Konstarn MA, Udelson JE, Anand IS, Cohn JN. Ventricular remodelling in the heart failure: a credible surrogate endpoint. *J Card Fail* 2003; 9: 350-353.
26. Hwang JJ, Dzau VJ, Liew CC. Genomics and the pathophysiology of heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2001;3: 198-207.
27. Feldman AM, Li YY, McTierman CF. Matrix metalloproteinases in pathophysiology and treatment of heart failure. *Lancet* 2001; 357: 654-655.
28. Marshall D, Sack MN. Apoptosis: a pivotal event or an epiphenomenon in the pathophysiology of heart failure? *Heart* 2000; 84: 355-356.
29. Swedberg K. Importance of neuroendocrine activation in chronic heart failure. Impact on treatment strategies. *Eur J Heart Fail* 2000; 2: 229-233.
30. Ankers SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004; 90: 464-470.
31. Francis GS. Pathophysiology of chronic heart failure. *Am J Med* 2001; 110:37S -46S.
32. Heart failure. Robbins and Cotran Pathology Basis of Disease, Professional Edition, 8<sup>th</sup> ed. Saunders, Philadelphia 2009:533-537.
33. Sandler H, Dodge HT. Left ventricular tension and stress in man. *Circ Res* 1963; 541-548.
34. McMurray J, Komajda M, Anker S, Gardner R. Kalp Yetersizliği: Epidemiyoloji, Fizyopatoloji ve Tanı. Camm AJ, Lüscher TF, Serruys PW editörler. ESC Textbook: Kardiyovasküler Hastalıklar. CSA Global Publishing 2007; sayfa: 696-697.
35. J.S Floras. Sympathetic activation in human heart failure: diverse mechanisms, therapeutic opportunities. *Acta Physiol Scand* 2003;177:391-398.
36. Douglas L. Mann. Pathophysiology of heart failure. In : Heart Disease (8th edition, Braunwald E, Saunders, Philadelphia 2007. P.451-560.
37. Kaye DM, Lefkovits J, Jennings GL, Bergin P, Broughton A, Esler MD. Adverse consequences of high sympathetic nervous activity in the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1257-1263.

38. Amd Watson, SG Hood and CN May. Mechanisms of sympathetic activation in heart failure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006;33:12669-1274.
39. Lavoie JL, Sigmund CD. Minireview: overview of the renin-angiotensin system – an endocrine and paracrine system. *Endocrinology* 2003;144: 2179-2183.
40. Roland E Schimieder, Karl F Hilgers, Markus P Schlaich, Bernhard M W Schmidt. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. *Lancet* 2007;369:1208-1219.
41. Unger T, Li J. The role of the renin-angiotensin-aldosteron system in heart failure. *J Renin Angiotensin Aldosteron Syst* 2004;5:7-10.
42. Lee CR, Watkins ML, Patterson JH et al. Vasopressin: a new target for the treatment of heart failure. *Am Heart J* 2003; 146:9-18.
43. Goldsmith SR, Francis GS, Cowley AW Jr et al. Increased plasma arginine vasopressin levels in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1:1385-1390.
44. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999;341:577-585.
45. McMurray J, Komajda M, Anker S, Gardner R. Kalp Yetersizliği: Epidemiyoloji, Fizyopatoloji ve Tanı. Camm AJ, Lüscher TF, Serruys PW editörler. *ESC Textbook: Kardiyovasküler Hastalıklar*. CSA Global Publishing 2007; sayfa: 699.
46. Goldsmith SR, Francis GS, Cowley AW Jr, Levine TB, Cohn JN. Increased plasma arginine vasopressin levels in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1983;1:1385-1390.
47. Brandt RR, Wright RS, Redfield MM, Burnett JC Jr. Atrial natriuretic peptide in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993;22 (4 Suppl A):86A-92A.
48. Munagala VK, Burnett JC Jr, Redfield MM. The natriuretic peptides in cardiovascular medicine. *Cur Probl Cardiol* 2004; 29:707-767.
49. Abassi Z, Karram T, Ellaham S, Winaver J, Hoffman A. Implications of the natriuretic peptide system in the pathogenesis of heart failure: Diagnostic and therapeutic importance. *Pharmacol Ther* 2004;102:223-241.
50. Boland DG, Abraham WT. Natriuretic peptides in heart failure. *Congestive Heart Fail* 1998;4:23-33.



51. Lisy O, Lainchbury JG, Leskinen H, Burnett JC Jr. Therapeutic actions of a new synthetic vasoactive and natriuretic peptide, dendroaspis natriuretic peptide, in experimental severe congestive heart failure. *Hypertension* 2001;37: 1089-1094.
52. Burnett Jr JC, Costello-Boerrigter L, Boerrigter G. Alterations in the kidney in heart failure: The cardiorenal axis in the regulation of sodium homeostasis. In: Mann DL, ed. *Heart Failure: A Companion to Braunwald's Heart Disease*, Philadelphia : Saunders ; 2003:279-289.
53. Parker JD, Thiessen JJ. Increased endothelin-1 production in patients with chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: 1141-1145.
54. Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation*. 1992;85:504-509.
55. Serneri GG, Cecioni I, Vanni S, Panizza R, et al. Selective upregulation of cardiac endothelin system in patients with ischemic but not idiopathic dilated cardiomyopathy: endothelin-1 system in human failing heart. *Circ Res*. 2000;86:377-385.
56. Feng QP, Hedner T, Andersson B, et al. Cardiac neuropeptide Y and noradrenaline balance in patients with congestive heart failure. *Br Heart J* 1994;71:261-267.
57. Drexler H, Hayoz D, Munzel T et al. Endothelial function in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1992;69: 1596-1601.
58. Katz SD, Khan T, Zeballow GA, Mathew L et al. Decreased activity of the L-arginin nitric oxide metabolic pathway in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1000; 99:2113-2117.
59. Grieve DJ, Shah AM. Oxidative stress in heart failure. More than just damage. *Eur Heart J* 2003;24:2161-2163.
60. Berry C, Hamilton C, Brosnan MJ et al. Investigation into the sources of superoxide in human blood vessels: angiotensin II increases superoxide production in human internal mammary arteries. *Circulation* 2000;101:2206-2212.
61. Galijasevic S, Saed GM, Diamond MP, Abo-Soud HM. Myeloperoxidase up-regulates the catalytic activity of inducible nitric oxide synthase by preventing nitric oxide feedback inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:14766-71.

62. Doehner W, Anker SD. Uric acid in chronic heart failure. *Semin Nephrol* 2005;25:61-66.
63. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004; 90: 464-470.
64. Feldman AM, Combes A, Wagner D et al. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 537-544.
65. Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356: 930-933.
66. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM et al. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: An analysis of the cytokine database from the vesnarinone trial (VEST). *Circulation* 2001; 103: 2055-2059.
67. Brilla CG, Maisch B. Regulation of the structural remodeling of the myocardium: from hypertrophy to heart failure. *Eur Heart J* 1994; (Suppl D): 45-52.
68. Şentürk T, Serdar OA. Kalp yetersizliği tanımı ve patofizyolojisi, Kozan Ö, Zoghi M, Ercan E, Tengiz İ editörler. *Temel Kardiyoloji birinci baskı*, Ankara, Güneş Tıp Kitabevi, 2011: 586-588.
69. Meerson FZ: The myocardium in hyperfunction, hypertrophy and heart failure. *Circ Res* 25 (Suppl 2): 1, 1969.
70. Grossman W, Jones D, McLaurin LP: Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 56: 56, 1975.
71. Houser SR, Margulies KB. Is depressed myocardial contractility centrally involved in heart failure?. *Circ Res* 2003; 92: 350-358.
72. Reiken S, Wehrens XH, Vest JA, Barbone A et al. beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2459-2466.
73. Lowers BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta blocking agents. *N Engl J Med* 2002; 346: 1357-1365.
74. Ingwall JS: Energetic basis of heart failure. In Mann DL (ed): *Heart Failure: A companion to Braunwald's Heart Disease: A textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia, WB Saunders, 2004, pp 91-108.

75. Ingwall JS: Is cardiac failure a consequence of decreased energy reserve? *Circulation* 87: VII-58, 1993.
76. Hardy CJ, Weiss RG, Bottomley PA, Gerstenblith G: Altered myocardial high-energy phosphate metabolites in patients with dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 122: 795, 1991.
77. Conway MA, Allis J, Ouwerkerk R et al: Detection of low phosphocreatine to ATP ratio in failing hypertrophied human myocardium by <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy. *Lancet* 338: 973, 1991.
78. Stefan Neubauer. The falling Heart – An Engine Out of Fuel. *N Engl J Med* 2007; 356: 1140-1151.
79. Criteria committee, New York Heart Association, inc. Diseases of the blood vessels. Nomenclature and criteria for diagnosis, 6th edition. Boston: Little, Brown;1964.
80. Mancini DM. Pulmonary factors limiting exercise capacity in patients with heart failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 37: 347.
81. Bradley TD, Floras JS. Sleep apnea and heart failure: Part II: central sleep apnea. *Circulation* 2003; 107: 1822-1826.
82. Bradley TD, Floras JS. Sleep apnea and heart failure: Part I: obstructive sleep apnea. *Circulation* 2003; 107: 1671-1678.
83. Ewald B, Ewald D, Thakkinstian A, Attia J. Meta-analysis of B type natriuretic peptide and N-terminal pro B natriuretic peptide in the diagnosis of clinical heart failure and population screening for left ventricular systolic dysfunction. *Intern Med J* 2008;38:101–113.
84. Maisel A, Mueller C, Adams K Jr, Anker SD et al.State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur J Heart Fail* 2008;10:824–839.
85. Eren M. Kronik kalp yetersizliği. Kozan Ö, Zoghi M, Ercan E, Tengiz İ editörler. *Temel Kardiyoloji birinci baskı* , Ankara, Güneş Tıp Kitabevi, 2011: 616-17.
86. Jong P, Vowinckei E, Liu PP, Gong Y et al. Prognosis and determinants of survival in patients with newly hospitalized for heart failure: a population based study. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1689-1694.
87. Eren M. Kronik kalp yetersizliği, Kozan Ö, Zoghi M, Ercan E, Tengiz İ editörler. *Temel Kardiyoloji birinci baskı* , Ankara, Güneş Tıp Kitabevi, 2011: 609-38.

88. Givertz MM, Colucci WS, Braunwald E. Kalp yetmezliğinin klinik özellikleri; Pulmoner ödem, Yüksek debili yetmezlik, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E editörler, Braunwald Kalp Hastalıkları (a textbook of cardiovascular medicine), birinci baskı, birinci cilt, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 551-555.
89. Bristow MR, Linas S, Port DJ. Kalp Yetmezliđ Tedavisinde Kullanılan İlaçlar, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E editörler, Braunwald Kalp Hastalıkları (a textbook of cardiovascular medicine), birinci baskı, birinci cilt, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 569-95.
90. Umemura K, Nakashima M, Surma T. Thromboxane A2 synthetase inhibition suppresses cough induced by angiotensin converting enzyme inhibitors. *Life Sci* 1997; 60: 1583-8.
91. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med* 1987;316:1429–1435.
92. 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.
93. Packer M, Poole-Wilson PA, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Massie BM, Ryden L, Thygesen K, Uretsky BF. Comparative effects of low and high doses of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, lisinopril, on morbidity and mortality in chronic heart failure. ATLAS Study Group. *Circulation* 1999;100:2312–2318.
94. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med* 1992;327:685–691.
95. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 1999;353:9–13.
96. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001–2007.
97. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, et al. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and wellbeing in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). MERIT-HF Study Group. *JAMA* 2000;283:1295–1302.

98. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;344:1651–1658.
99. Packer M, Fowler MB, Roecker EB, Coats AJ, Katus HA, et al. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation* 2002;106:2194–2199.
100. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:709–717.
101. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, van Veldhuisen DJ, et al. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med* 2011;364:11–21.
102. Granger CB, McMurray JJ, Yusuf S, Held P, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet* 2003;362:772–776.
103. Swedberg K, Komajda M, Bohm M, Borer JS, et al. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2010;376:875–885.
104. A comparison of antiarrhythmic-drug therapy with implantable defibrillators in patients resuscitated from near-fatal ventricular arrhythmias. The Antiarrhythmics versus Implantable Defibrillators (AVID) Investigators. *N Engl J Med* 1997;337:1576–1583.
105. Oseroff O, Retyk E, Bochoeyer A. Subanalyses of secondary prevention implantable cardioverter-defibrillator trials: antiarrhythmics versus implantable defibrillators (AVID), Canadian Implantable Defibrillator Study (CIDS), and Cardiac Arrest Study Hamburg (CASH). *Curr Opin Cardiol* 2004;19:26–30.
106. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Daubert JP, et al. Improved survival with an implanted defibrillator in patients with coronary disease at high risk for ventricular arrhythmia. Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial Investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1933–1940.
107. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, Poole JE, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med* 2005;352:225–237.
108. Banner NR, Bonser RS, Clark AL, Clark S, et al. Guidelines for referral and assessment of adults for heart transplantation. *Heart* 2011;97:1520–1527.

109. Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, Russell S, et al. Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates—2006. *J Heart Lung Transplant* 2006;25:1024–1042.
110. Iqbal N, Wentworth B, Choudhary R, De La Parra Landa A, et al. Cardiac biomarkers: New tools for heart failure management. *Cardiovasc Diagn Ther* 2012;2(2):147-164.
111. Taub PR, Gabbai-Saldate P, Mairsel A. Biomarkers of Heart Failure. *Congest Heart Fail*. 2010;16 (4) suppl 1):S19–S24.
112. Emdin M, Vittorini S, Passino C, Clerico A. Old and new biomarkers of heart failure. *European Journal of Heart Failure* (2009) 11, 331–335.
113. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:2357–2368.
114. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347: 161– 167.
115. Wang TJ, Larson MG, Levey D, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med*. 2004;350:655–663.
116. Maisel A, Hollander JE, Guss D, et al. Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial (REDHOT): a multicenter study of B-type natriuretic peptide levels, emergency department decision making, and outcomes in patients presenting with shortness of breath. *J Am Coll Cardiol*. 2004;4:1328–1333.
117. Fonarow GC, Peacock WF, Phillips CO, et al. Admission B-type natriuretic peptide levels and in-hospital mortality in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1943–1950.
118. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, et al. PredischARGE B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of readmission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:635–641.
119. Lainchbury JG, Troughton RW, Strangman KM, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide-guided treatment of chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:53–60.
120. Pfisterer M, Buser P, Rickli H, et al. BNP guided vs symptom-guided heart failure therapy: the trial of intensified vs standard medical therapy in elderly patients with congestive heart failure. *JAMA*. 2009;301:383–392.

121. Felker GM, Hasselblad V, Hernandez AF, O'Connor CM. Biomarker-guided therapy in chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J.* 2009;158(3):422–430.
122. Shimizu H, Masuta K, Aono K, et al. Molecular forms of human brain natriuretic peptide in plasma. *Clin Chim Acta.* 2002;316:129–135.
123. Liang F, O'Rear J, Schellenberger U, et al. Evidence for functional heterogeneity of circulating B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:1071–1078.
124. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, et al. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:976–982.
125. Morrison LK, Harrison A, Krishnaswamy P, et al. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:202–209.
126. Daniels LB, Clopton P, Bhalla V, et al. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J.* 2006;151:999–1005.
127. Ronco C, Haapio M, House AA, et al. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:1527–1539.
128. Maisel A, Mueller C, Nowak R, et al. Mid-region prohormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2062–2076.
129. Peacock WF, Nowak R, Christenson R, et al. Short-term Mortality Risk in ED Acute HF. *Acad Emerg Med* 2011;18:947-58.
130. Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, et al. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation.* 2003;107:721–726.
131. Schmitz J, Owyang E, Oldham Y, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* 2005;23:479–490.

132. Januzzi JL, Peacock F, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:607–613.
133. Ago T, Sadoshima J. GDF-15, a cardioprotective TGF-B superfamily protein. *AHA Journals*. 2011.
134. Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, et al. Atniangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3. *Circ Res* 2007;100:61-9.
135. Ding Q, Mracek T, Gonzalez-Muniesa P, et al. Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes. *Endocrinology* 2009;150:1688-96.
136. Kempf T, von Haehling S, Peter T, et al. Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic HF. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1054-60.
137. Anand IS, Kempf T, Rector TS, et al. Serial measurement of growth differentiation factor-15 in HF. *Circulation* 2010;122:1387-95.
138. McCullough PA, Olobatoke A, Vanhecke TE. Galectin-3: a novel blood test for the evaluation and management of patients with HF. *Rev Cardiovasc Med* 2011;12:200-10.
139. Grandin EW, Jarolim P, Murphy SA, et al. Galectin-3 and the development of HF after acute coronary syndrome: pilot experience from PROVE IT-TIMI 22. *Clin Chem* 2012;58:267-73.
140. de Boer RA, Lok DJ, Jaarsma T, et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in HF with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med* 2011;43:60-8.
141. Lok DJ, Van Der Meer P, de la Porte PW, et al. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic HF: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol* 2010;99:323-328.
142. van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr, Ellinor PT, et al. Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute HF. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1217-24.
143. Dubin R, Li Y, Ix JH, et al. Associations of pentraxin-3 with cardiovascular events, incident heart failure, and mortality among persons with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Am Heart J* 2012;163:274-9.



144. Suzuki S, Takeishi Y, Niizeki T, et al. Pentraxin 3, a new marker for vascular inflammation, predicts adverse clinical outcomes in patients with heart failure. *Am Heart J* 2008;155:75-81.
145. Kotooka N, Inoue T, Aoki S, et al. Prognostic value of pentraxin 3 in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol* 2008;130:19-22.
146. Matsubara J, Sugiyama S, Nozaki T, et al. Pentraxin 3 is a new inflammatory marker correlated with left ventricular diastolic dysfunction and heart failure with normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:861-9.
147. Vita JA, Brennan ML, Gokce N. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2004;110:1134-9.
148. Xue Y, Clopton P, Peacock W, et al. Serial changes in high-sensitive troponin I predict outcome in patients with decompensated HF. *Eur J Heart Fail* 2011;13:37-42.
149. Pudil R, Tichy M, Andrys C, et al. Plasma interleukin-6 is associated with NT-proBNP level and predict short and long term mortality in patients with acute heart failure. *Acta Med (Hradec Kralove)* 2010;53:225-8.
150. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, et al. High levels of plasma brain natriuretic peptide and interleukin-6 after optimized treatment for heart failure are independent risk factors for morbidity and mortality in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1587-93.
151. Kleinbongard P, Schulz R, Heusch G. TNF $\alpha$  in myocardial ischemia/reperfusion, remodeling and heart failure. *Heart Fail Rev* 2011;16:49-69.
152. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation* 2003;108:2317-22.
153. Engström G, Melander O, Hedblad B. Carotid intima-media thickness, systemic inflammation, and incidence of heart failure hospitalizations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:1691-5.
154. Tang WH, Tong W, Troughton RW, et al. Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2364-70.
155. Milo-Cotter O, Cotter-Davison B, Lombardi C, et al. Neurohormonal activation in acute heart failure: results from VERITAS. *Cardiology* 2011;119:96-105.

156. Maisel A, Xue Y, Shah K, et al. Increased 90-day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) study. *Circ Heart Fail* 2011;4:613-20.
157. Zile MR, Desantis SM, Baicu CF, et al. Plasma biomarkers that reflect determinants of matrix composition identify the presence of left ventricular hypertrophy and diastolic heart failure. *Circ Heart Fail* 2011;4:246-56.
158. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843–54.
159. Ruvkun, G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science*, 2001;294:797–9.
160. Sassen S., Miska EA, Caldas A. MicroRNA—implications for cancer. *Virchows Arch* (2008) 452:1–10.
161. Hutvagner G, Zamore PD. A microRNA in a Multiple-Turnover RNAi Enzyme Complex. *Science* 297, 2056 (2002).
162. Lehmann U, Hasemeier B, Christgen M, Müller M et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene *hsa-mir-9-1* in human breast cancer. *Journal of Pathology J Pathol* 2008; 214: 17–24.
163. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *PNAS* March 2, 2004 vol. 101 no. 9 2999-3004.
164. Verghese ET, Handby AM, Speirs V, Hughes TA. Small is beautiful: microRNAs and breast cancer-where are we now? *J Pathol* 2008 Jul;215(3):214-21.
165. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007 Feb 1;302(1):1-12.
166. Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. *Nature*, 2004;432:231-5.
167. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001;409:363-6.
168. Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, Vol. 116, 281–297, January 23, 2004

169. Slaby O, Svoboda M, Michalek J, Vyzula R: MicroRNAs in colorectal cancer: translation of molecular biology into clinical application. *Mol Cancer* 8;102, 2009.
170. Small EM, Olson EN: Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 469;336-342, 2011
171. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D: Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 10;111-122, 2010.
172. Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J* 31;659-666, 2010.
173. Caporali A, Meloni M, Völlenkle C, Bonci D, et al. Deregulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia. *Circulation* 123;282-291, 2011.
174. Maes OC, Chertkow HM, Wang E, Schipper HM. Micro- RNA: Implications for Alzheimer Disease and other Human CNS Disorders. *Curr Genomics* 10;154-168, 2009.
175. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:10513–10518.
176. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;141:672– 675.
177. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature*, 2005;438:685–9.
178. Esther E. Creemers, Anke J. Tijssen and Yigal M. Pinto. Circulating MicroRNAs : Novel Biomarkers and Extracellular Communicators in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2012;110:483-495.
179. Ono K, Kuwabara Y, Han J. MicroRNAs and cardiovascular diseases. *FEBS Journal* 278 (2011) 1619–1633.
180. Matkovich SJ, Van Booven DJ, Youker KA, Torre-Amione Get al. Reciprocal regulation of myocardial microRNAs and messenger RNA in human cardiomyopathy and reversal of the microRNA signature by biomechanical support. *Circulation* 119(9):1263–1271

181. 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(6):1035–1039.
182. Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, Goto Y, Iwai N. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure. *Circ J*. 2011;75:336–340.
183. Goren Y, Kushnir M, Zafirir B, Tabak S, et al. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *European Journal of Heart Failure* (2012) 14, 147–154.
184. Thum T, Galuppo P, Wolf C, Friedler J et al. MicroRNAs in the Human Heart : A Clue to Fetal Gene Reprogramming in Heart Failure. *Circulation*. 2007;116:258-267.
185. Sucharov C, Bristow MR, Port D. miRNA expression in the failing human heart: Functional correlates. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 45 (2008) 185–192.
186. Ikeda S, Kong SV, Bisping E, Zhang H et al. Altered microRNA expression in human heart disease. *Physiol Genomics* 31: 367–373, 2007.
187. He A, Zhu L, Gupta N, Chang Y, et al. Overexpression of micro ribonucleic acid 29, highly upregulated in diabetic rats, leads to insulin resistance in 3T3 L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*. 2007;21:2785 - 2794.
188. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. mir - 29 regulates Mcl - 1 protein expression and apoptosis. *Oncogene*. 2007;26:6133 - 6140.
189. Ramani R, Vela D, Segura A, McNamara D et al. A MicroRNA Signature Associated with Recovery from Assist Device Support in Two Groups of Patients with Severe Heart Failure. *J Am Cardiol Vol 58 No 22, 2011 November 22, 2011: 2270-2278*.
190. Gurha P, Abreu-Goodger C, Wang T, Ramirez MO et al. Targeted Deletion of MicroRNA-22 Promotes Stress-Induced Cardiac Dilation and Contractile Dysfunction. *Circulation*. 2012;125:2751-2761.
191. Hartley CJ, Reddy AK, Madala S, Michael LH et al. Doppler estimation of reduced coronary flow reserve in mice with pressure overload cardiac hypertrophy. *Ultrasound Med Biol*. 2008;34:892-901.
192. Van Roji E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH et al. A signature pattern of stress responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *PNAS* November 28, 2006 vol. 103 no. 48 18255–18260.

193. Bang C, Fiedler J, Thum T. Cardiovascular Importance of the MicroRNA-23/27/24 Family. *Microcirculation* 19: 208–214, 2012.
194. Fiedler J, Jazbutyte V, Kirchmaier BC, Gupta SK, et al. MicroRNA-24 regulates vascularity after myocardial infarction. *Circulation* 124: 720–730, 2011.
195. Chan MC, Hilyard AC, Wu C, Davis BN et al. Molecular basis for antagonism between PDGF and the TGFbeta family of signalling pathways by control of miR- 24 expression. *EMBO J* 29: 559–573, 2010.
196. Qian L, Van Laake LW, Huang Y, Liu S et al. miR-24 inhibits apoptosis and represses Bim in mouse cardiomyocytes. *J Exp Med* 208: 549–560, 2011.
197. Qin W, Shi Y, Zhao B, Yao C et al. miR-24 regulates apoptosis by targeting the open reading frame (ORF) region of FAF1 in cancer cells. *PLoS ONE* 5: e9429, 2010.
198. Wang Q, Huang Z, Xue H, Jin C et al. MicroRNA miR-24 inhibits erythropoiesis by targeting activin type I receptor ALK4. *Blood* 111: 588– 595, 2008.
199. Srivastava N, Manvati S, Srivastava A, Pal R et al. miR-24- 2 controls H2AFX expression regardless of gene copy number alteration and induces apoptosis by targeting antiapoptotic gene BCL-2: a potential for therapeutic intervention. *Breast Cancer Res* 13: R39, 2011.
200. Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M et al. MicroRNA-92a Controls Angiogenesis and Functional Recovery of Ischemic Tissues in Mice. *SCIENCE VOL 324 26 JUNE 2009* .
201. Taurino C, Miller WH, McBride MW, McClure JD et al. Gene expression profiling in whole blood of patients with coronary artery disease. *Clinical Science* (2010) 119, 335–343.
202. Ren XP, Wu J, Wang X, Sartor MA et al. MicroRNA-320 Is Involved in the Regulation of Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury by Targeting Heat-Shock Protein 20. *Circulation*. 2009;119:2357-2366.
203. Fan KL, Zhang HF, Shen J, Zhang Q et al. Circulating microRNAs levels in Chinese heart failure patients caused by dilated cardiomyopathy. *Indian Heart Journal* January 2013 volume 65, issue 1, p: 12-16.